はじめに

独立行政法人農林水産消費安全技術センター（FAMIC）は肥料取締法に定められている肥料の登録及び仮登録の申請に関する業務，肥料事業者等への立入検査に関する業務，肥料公定規格の設定等に関する業務と，地力増進法に定められている土壌改良資材の立入検査業務等を行っております．

肥料は肥料取締法で定められた保証成分の適正な管理のため一定水準の分析の正確さが求められています．特に近年は肥料原料の高騰から汚泥など未利用資源の肥料への利用拡大が進んでおります．しかしながら，汚泥肥料には有害な重金属を含有する恐れがあるため，安全な肥料としての流通を確保するために検査・分析の比重がより高まっております．

「肥料研究報告」は，日進月歩する分析機器を導入して迅速・効率的な分析法の開発と妥当性の検証，既存の方法の性能調査，肥料由来の有害成分の土壌中での挙動や作物への吸収，全国肥料品質保全協議会と共同での精度管理試験など，日頃の業務の中から見いだされた課題に検討を加え，得られた知見を取り纏めたものです．今般，平成 25 年度に得られた成果を中心に収録した第 7 号を発行いたしましたので，関係各位の業務の参考にしていただくと共に，お気付きの点がありましたらご指摘いただければ幸いです．

2014 年 12 月
独立行政法人農林水産消費安全技術センター
理事長　木村 眞人

肥料研究報告 第 7 号

– 2014 –

目　次

＜ノート＞

Research Report of Fertilizer　Volume 7

– 2014 –

Index

1　液体クロマトグラフタンデム型質量分析計（LC-MS/MS）による堆肥及び汚泥肥料中のクロピラリド，アミノピラリド及びピクロラムの測定

顯谷久典[1]，八木寿治[2]，橋本良美[2]，白井裕治[2]

キーワード　クロピラリド，アミノピラリド，ピクロラム，堆肥，汚泥発酵肥料，液体クロマトグラフタンデム型質量分析計

1. はじめに

クロピラリド，アミノピラリド及びピクロラムはカルボキシル基を有するピリジン系の農薬である．このうちクロピラリドは，これに汚染された堆肥等を利用した場合，植物種により生育障害等が発現することが知られている[1)]．一方，諸外国において堆肥中からアミノピラリドが検出され，これによるものと疑われる生育障害報告例[2)]があるなど，クロピラリドと類似の構造を持った植物ホルモン系除草剤であるアミノピラリド及びピクロラムはクロピラリドと同様の障害を発生させる可能性があり，これらを定量化する方法の確立は重要と考えられる．

現在、これらについて農産物等中の 2 成分もしくは 3 成分の同時測定法が開発されている[3, 4)]が，堆肥及び汚泥肥料中の 3 成分同時測定法の開発は確認できない．そこで，液体クロマトグラフダンデム型質量分析計（LC-MS/MS）による肥料中のクロピラリド定量法[5)]を用い，肥料中のクロピラリド，アミノピラリド及びピクロラムの同時定量への適用性について検討を行ったので，その概要を報告する．

なお，クロピラリド，アミノピラリド及びピクロラムの構造式を Fig. 1 に示した．

Clopyralid　CAS No: 1702-17-6　　Aminopyralid　CAS No: 150114-71-9　　Picloram　CAS No: 1918-02-1

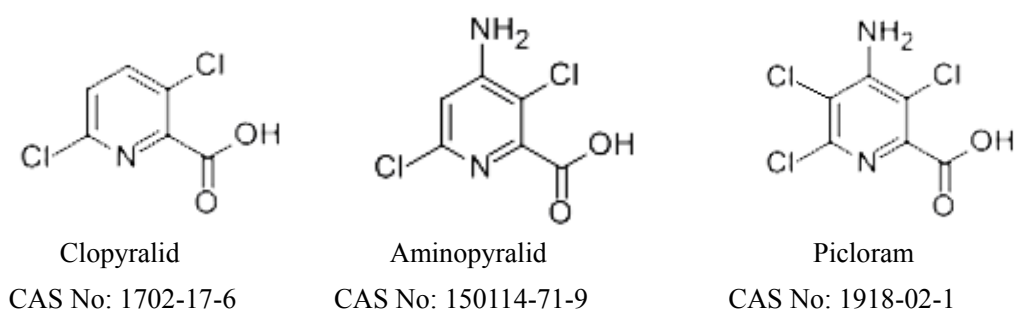



Fig. 1　Chemical structure of Clopyralid, Aminopyralid and Picloram

2.　材料および方法

1）　供試試料

市販の堆肥（牛糞堆肥）及び汚泥発酵肥料（牛糞含有汚泥発酵肥料及び豚糞含有汚泥発酵肥料）を 40 ℃

[1] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部 （現）農林水産省消費・安全局
[2] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

で一晩風乾した後，目開き 500 µm のスクリーンを通過するまで粉砕し，分析用試料とした.

2） 試薬等の調製

（1） クロピラリド，アミノピラリド及びピクロラム標準液： クロピラリド標準品（含量 99 %，Dr.Ehrenstorfer GmbH），アミノピラリド標準品（含量 99 %，Dr.Ehrenstorfer GmbH）及びピクロラム標準品（含量 98 %，和光純薬工業株式会社 残留農薬試験用）10 mg を正確に量って全量フラスコ 100 mL に入れ，アセトニトリルを加えて溶かし，各標準原液を調製した（この液 1 mL は各農薬 100 µg を含有する）．使用に際して，各標準原液の一定量をぎ酸（1+1,000）で正確に希釈し，1 mL 中に各農薬としてそれぞれ 0.5～1,000 ng を含有する混合標準液を調製した.

（2） 溶離液用メタノール： LC-MS 用試薬を用いた.

（3） 標準液調製用アセトニトリル： 残留農薬分析用試薬を用いた.

（4） 特記している以外の試薬については特級を用いた.

3） 装置及び器具

（1） 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計（LC-MS/MS）： Waters　Quattro Premier XE

　カラム： Waters　ACQUITY UPLC HSS C18（内径 2.1 mm, 長さ 100 mm, 粒径 1.8 µm）

（2） 振とう機： iuchi　AW-1

（3） 遠心分離機： KOKUSAN　H-26F

（4） ロータリーエバポレーター： BÜCHI　R-200

（5） カートリッジカラム ： Waters　Oasis HLB 6cc（200 mg）

（6） 超遠心分離機： AS ONE　MCD-2000

（7） マニホールド： Waters

4） 試験操作

（1） 抽　出

分析試料 5.00 g をはかりとって共栓三角フラスコ 200 mL に入れ，水酸化ナトリウム溶液（4 w/v%） 1 mL 及びメタノール 99 mL を加え，30 分間振り混ぜた．その後，共栓遠心沈殿管 50 mL に内容量を移し，3,000 rpm（1,300×*g*）で 5 分間遠心分離して上澄み液を抽出液とした.

（2） 精　製1

カートリッジカラムを予めメタノール 5 mL 及び水 5 mL で速やかに洗浄した．なすフラスコ 50 mL をカートリッジカラムの下に置き，抽出液 5 mL をカートリッジカラムに正確に加え，速やかに液面が充てん剤の上端に達するまで溶出させた．さらに水酸化ナトリウム溶液（0.04 w/v%）－メタノール［1+1］5 mL を 2 回カートリッジカラムに加え，同様に溶出させた.

（3） 精　製 2

新たなカートリッジカラムを予めアセトニトリル 5 mL 及び塩酸（1+120）5 mL で速やかに洗浄した．抽出液を 40 °C 以下の水浴で 5 mL 以下まで減圧濃縮した後，塩酸（1+11）3 mL を加えた．その後，濃縮した抽出液をカートリッジカラムに負荷させ，速やかに液面が充てん剤の上端に達するまで流出させた．容器を塩酸（1+120）5 mL で 2 回洗浄し，洗液を順次カートリッジカラムに加え，次に塩酸（1+120）－アセトニトリル［9+1］5 mL 及び水 5

mL を順次カートリッジカラムに加えて速やかに流出させた．全量フラスコ 5 mL をカートリッジカラムの下に置き，アンモニア溶液（0.0025 w/v%）－アセトニトリル［9+1］4 mL をカートリッジカラムに正確に加え，速やかに溶出させた．ぎ酸（1+1,000）で定容した後，プラスチック製遠心沈殿管 1.5 mL に入れ，10,000 rpm（8,000×*g*）で 5 分間遠心分離し，上澄み液を試料溶液とした．

（4） 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定

試料溶液及び混合標準液各 5 µL を液体クロマトグラフタンデム型質量分析計（以下「LC-MS/MS」という．）に注入し，Table 1 及び Table 2 の測定条件に従って選択反応検出クロマトグラム（以下「SRM クロマトグラム」という．）を得た．

Table 1 Operating conditions of LC-MS/MS

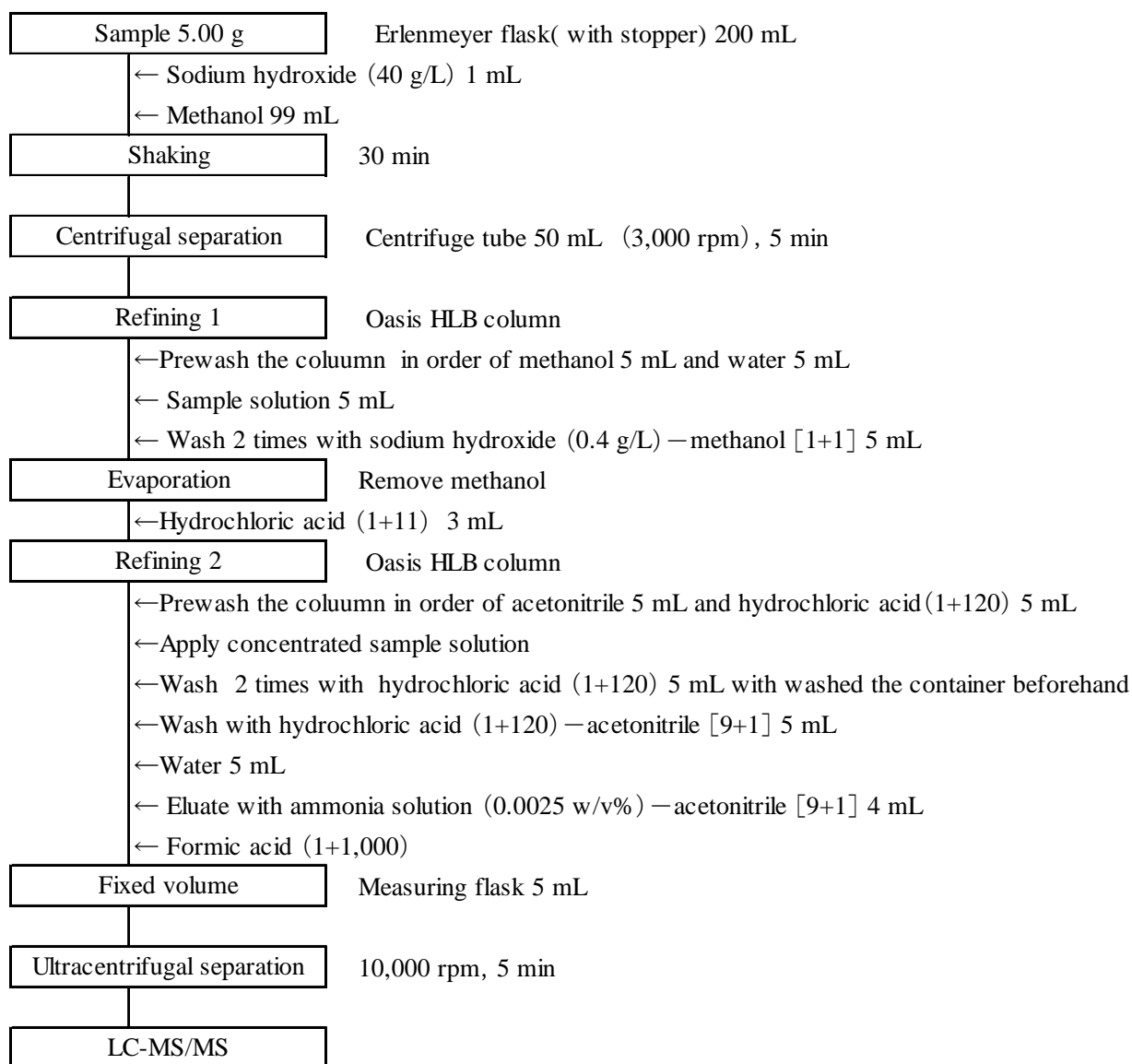
Column	Waters, ACQUITY UPLC HSS C18 (2.1 mm i.d.×100 mm L, 1.8 µm particle size)
Mobile phase	A: Formic acid (1+1,000) B: Methanol 0 min (5 %B)→5 min (60 %B)→6 min (95 %B)→7 min (5 %B)
Flow rate	0.4 mL/min
Column temperature	40 °C
Ionaization	Electrospray ionization (ESI)
Mode	Positive
Desolvation gas	N_2, 400 °C, 800 L/h
Cone gas	Ar (50 L/h)
Capillary voltage	1.0 kV
Ion source	120 °C

Table 2 MS/MS Parameters

Agricultural chemical	Precursor ion	Product ion		Cone voltage	Collision energy	
		for quantification	for identification		for quantification	for identification
	(*m/z*)	(*m/z*)	(*m/z*)	(V)	(eV)	(eV)
Clopyralid	192	146	110	20	20	30
Aminopyralid	207	161	189	22	22	16
Picloram	241	195	223	28	22	16

5） 計 算

得られた SRM クロマトグラムからクロピラリド，アミノピラリド及びピクロラムのピーク面積を求めて検量線を作成し，試料中の各種農薬量を算出した．

なお，定量法の概要を Scheme 1 に示した．

Scheme 1 Analytical procedure for Clopyralid, Aminopyralid and Picloram in fertilizers

3．結果および考察

1）タンデム型質量分析計測定条件の検討

クロピラリドに関して，既報法[5, 6]に基づき，プリカーサーイオンとして *m/z* 192（$[M+H]^+$），プロダクトイオン（定量用）として *m/z* 146 を採用した．また，アミノピラリド及びピクロラム標準液に関して，今回の測定条件下でスキャンモードにて測定を行った結果，アミノピラリドでは *m/z* 207（$[M+H]^+$）及びピクロラムでは *m/z* 241（$[M+H]^+$）が最もイオン強度が大きく，プリカーサーイオンとして採用することにした．これらプリカーサーイオンから，プロダクトイオンの MS スペクトルを測定した．その結果，アミノピラリドでは *m/z* 161 及びピクロラムでは *m/z* 195 が最もイオン強度が大きく，プロダクトイオン（定量用）として採用することにした．

2）検量線の作成

2.2）の（1）に従って調製した混合標準液を 5 µL，LC-MS/MS に注入し，得られた SRM クロマトグラムからピー

ク面積を求めて検量線を作成した．その結果，0.5 ng/mL～100 ng/mL（0.0025 ng～0.5 ng）の範囲で直線性を示した．参考として検量線の一例を Fig. 2 に示した．

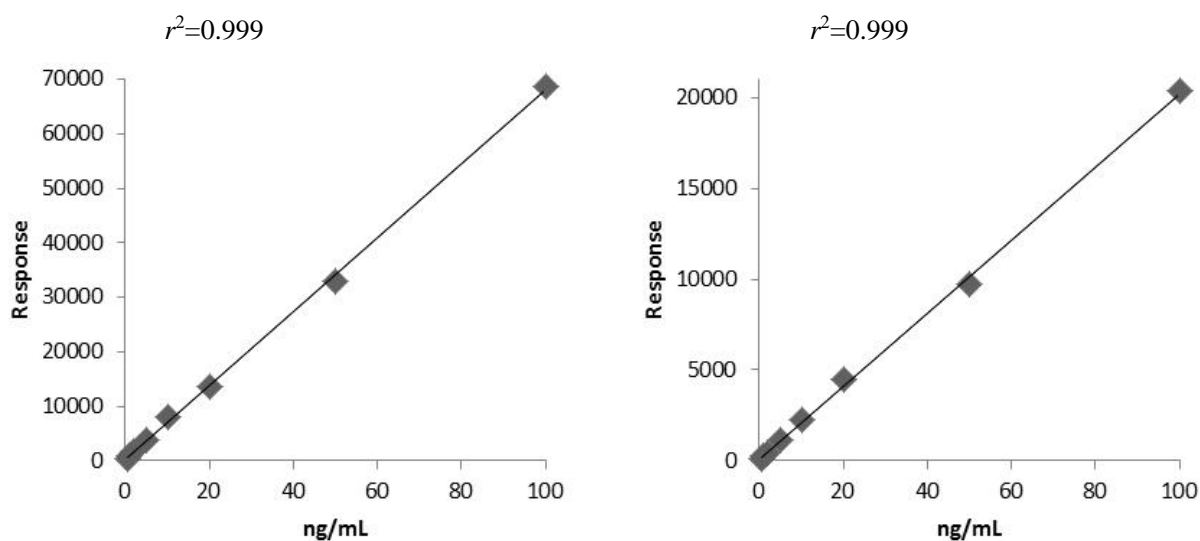



Fig. 2　Calibration curves of Aminopyralid and Picloram by their derivative peak areas in selected reaction monitoring chromatograms

3）マトリックスの検討

牛糞堆肥（2 種類），牛糞含有汚泥発酵肥料（2 種類）及び豚糞含有汚泥発酵肥料（1種類）を用い，本法により調製した試料溶液 5 μL を LC-MS/MS に注入し，定量を妨げるピークの有無を確認したところ，定量を妨害するピークは認められなかった．

4）カートリッジカラムの溶出画分の検討

カートリッジカラムについて溶出液の溶出画分に関する検討を行った．各農薬として試料中 50 μg/kg 相当量となるよう混合標準液を調製し，2.4）の（3）の精製 2 に従い，アンモニア溶液（質量分率 0.0025 w/v%）－アセトニトリル［9+1］20mL を加え，各 4 mL ごとの流出画分中の各農薬を測定した．その結果，Table 3 のとおり，各農薬は 0 mL～4 mL に溶出し，それ以降の画分への溶出は確認されなかった．

Table 3　Elution pattern from cartridge columun [a)]

Agricultural chemical [b)]	Fraction volume					Total
	0~4 mL	4~8 mL	8~12 mL	12~16 mL	16~20 mL	
Clopyralid	89	0	0	0	0	89
Aminopyralid	87	0	0	0	0	87
Picloram	96	0	0	0	0	96

a) Mean Value（n =3）

b) Each Pesticide spiked at each 50 µg/kg in the sample

5） イオン化抑制・イオン化促進効果の検討

分析機器におけるマトリックスによるイオン化抑制・イオン化促進効果の影響の有無に関する確認を行った．各農薬として 50 ng/mL を含有する混合標準液と，牛糞堆肥及び牛糞含有汚泥発酵肥料を 2.4）（1）から（3）に従い調製した溶液に各農薬として 50 ng/mL となるように混合標準液を添加した溶液とを，2.4）（4）にて測定し比較した結果は Table 4 のとおりであり，これらを Welch の t 検定を有意水準 5 %で行ったところ，比較対象間に有意な差は認められなかった．

Table 4　Confirmation of sensitization or desentization effect action by sample solution

Sample	Agricultural chemical	Spiked level（ng/mL）	Recovery of standard [a)] (%)	Recovery of sample solution [a) b)] (%)
Cattle manure compost	Clopyralid	50	105.6	103.1
	Aminopyralid	50	101.5	100.8
	Picloram	50	102.7	108.2
Composted sludge fertilizer containing cattle manure	Clopyralid	50	105.6	106.6
	Aminopyralid	50	101.5	100.3
	Picloram	50	102.7	101.0

a) Mean Value（n =3）

b) Spiked standard in sample solution

6） 添加回収試験

牛糞堆肥（2 種類），牛糞含有汚泥発酵肥料（2 種類）及び豚糞含有汚泥発酵肥料（1種類）に，クロピラリド，アミノピラリド及びピクロラムとしてそれぞれ 40 µg/kg，400 µg/kg 及び 1,000 µg/kg 相当量添加し，一夜放置後，本法に従って 3 点併行分析を行い，得られたその平均回収率及び併行相対標準偏差を Table 5 に示した．クロピラリドの平均回収率は 74.7 %～114.2 %，それらの併行相対標準偏差（RSD）は 1.2 %～10.7 %，アミノピラリドの平均回収率は 71.2 %～104.5 %，それらの併行相対標準偏差（RSD）は 1.1 %～10.2 %，ピクロラムの平均回収率は 72.7 %～117.6 %，それらの併行相対標準偏差（RSD）は 1.1 %～9.2 %であった．

7） 定量下限及び検出下限

牛糞堆肥及び牛糞含有汚泥発酵肥料を用いて，クロピラリド，アミノピラリド及びピクロラムとしてそれぞれ 20 µg/kg 相当量添加し，一夜放置後，本法に従って 7 点併行試験を実施し定量下限及び検出下限の確認を行った．定量下限は（標準偏差）×10，また，検出下限は（標準偏差）×2×t（n-1，0.05）として示されるので，本法の定

量下限及び検出下限は 10 μg/kg 程度及び 5 μg/kg 程度と推定された（Table 6）.

Table 5 Accuracy result and repeatability precision

Sample	Spiked level (μg/kg)	Clopyralid		Aminopyralid		Picloram	
		Recovery[a)]	RSD[b)]	Recovery[a)]	RSD[b)]	Recovery[a)]	RSD[b)]
Cattle manure compost -1	1,000	82.8	3.2	78.3	7.3	87.9	3.7
	400	114.2	1.2	104.5	3.7	117.6	1.5
	40	95.7	2.6	83.0	3.4	75.5	5.7
Cattle manure compost -2	1,000	82.3	3.3	80.8	4.0	84.4	2.7
	400	90.1	3.8	81.0	3.3	88.7	1.1
	40	101.3	6.5	83.5	4.7	83.0	2.7
Composted sludge fertilizer containing cattle manure-1	1,000	81.9	4.9	81.6	8.7	90.0	2.4
	400	111.2	2.5	94.6	4.4	97.1	2.8
	40	86.5	10.7	71.2	2.6	82.7	9.2
Composted sludge fertilizer containing cattle manure-2	1,000	89.0	4.1	78.1	1.1	86.5	2.3
	400	81.6	5.1	94.0	1.2	99.2	3.4
	40	74.7	5.2	97.5	2.6	72.7	8.6
Composted sludge fertilizer containing pig manure	1,000	82.3	1.5	81.6	8.7	90.0	2.4
	400	91.4	4.5	95.1	2.0	105.0	3.6
	40	76.5	4.2	89.5	10.2	92.7	2.4

a) Mean Value（n=3）
b) Relative standard deviation

Table 6 Calculated LOQ and LOD values (μg/kg)

Sample	Agricultural chemical	Spiked level	Mean[a)]	s[b)]	LOQ[c)]	LOD[d)]
Cattle manure compost	Clopyralid	20	14.9	1.3	13	5
	Aminopyralid	20	14.0	1.1	11	4
	Picloram	20	16.5	0.8	8	3
Composted sludge fertilizer containing cattle manure	Clopyralid	20	15.1	1.4	14	5
	Aminopyralid	20	14.8	1.1	11	4
	Picloram	20	18.9	1.4	14	6

a) Mean Value（n=7）
b) Standard deviation
c) $s\times10$
d) $s\times2\times t(n-1,0.05)$

4. まとめ

肥料中のクロピラリド，アミノピラリド及びピクロラム同時定量法の妥当性を確認するため試験を実施したところ，次の結果を得た.

1） ピーク面積を用いて検量線を作成したところ，アミノピラリド及びピクロラムは 0.5 ng/mL～100 ng/mL（0.0025 ng～0.5 ng）の範囲で直線性を示した．

2） 2 種類の牛糞堆肥，2 種類の牛糞含有汚泥発酵肥料及び 1 種類の豚糞含有汚泥発酵肥料について本法に従って測定を実施した結果，定量を妨害するピークは認められなかった．

3） 各農薬として試料中 50 µg/kg 相当量となるよう混合標準液を調製してカートリッジカラムに負荷し、アンモニア溶液（0.0025 w/v%）－アセトニトリル［9+1］による流出画分中の各農薬を測定したところ，各農薬は 0 mL～4 mL に溶出し，それ以降の画分への溶出は確認されなかった．

4） 分析機器におけるマトリックスによるイオン化抑制・イオン化促進効果の影響の有無について，各農薬として 50 ng/mL 相当量を含有する混合標準液と，牛糞堆肥及び牛糞含有汚泥発酵肥料試料調製液に各農薬として 50 ng/mL 相当量となるように混合標準液を添加した溶液とを比較した結果，有意な差は認められなかった．

5） 2 種類の牛糞堆肥，2 種類の牛糞含有汚泥発酵肥料及び 1 種類の豚糞含有汚泥発酵肥料について本法に従い，クロピラリド，アミノピラリド及びピクロラムの含有量が 40 µg/kg，400 µg/kg 及び 1,000 µg/kg になるように添加し添加回収試験を実施した結果，平均回収率は 71.2 %～117.6 %，その併行精度は相対標準偏差（RSD）として 10.7 %以下であった．

6） 本法の堆肥及び汚泥発酵肥料中のクロピラリド，アミノピラリド及びピクロラムの定量下限及び検出下限は 10 µg/kg 程度及び 5 µg/kg 程度と推定された．

本法は，単一試験室による試験法の妥当性が確認されたことから，2013 年度肥料等技術検討会の審議を受け肥料等試験法[6)]に参考法として収載された．

文　献

1） 飼料及び堆肥に残留する除草剤の簡易判別法と被害軽減対策マニュアル，筑波印刷情報サービスセンター協同組合

2） Health and Safety Executive: Aminopyralid - Results of Analysis of Contaminated Manure, Soil，and Damaged Crops
<http://www.pesticides.gov.uk/guidance/industries/pesticides/topics/using-pesticides/General/aminopyralid-results-of-analysis-of-contaminated-manure-soil-and-damaged-crops>

3） TIAN Yingying，LIU Xingang，DONG Fengshou，XU Jun，LU Caihong: Simultaneous Determination of Aminopyralid, Clopyralid, and Picloram Residues in Vegetables and Fruits Using Ultra-Performance Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry，AOAC Int，**95**，554～559 (2012)

4） 杉村光永，豊田安基江，井原紗弥香，松尾 健: LC-MS/MS による農産物及び畜水産物中のアミノピラリド及びクロピラリドの同時分析法の検討， 広島県立総合技術研究所保健環境センター研究報告，**16**，17～29 (2008)

5） 八木寿治，関根優子，白井裕治：液体クロマトグラフダンデム型質量分析計（LC/MS/MS）によるたい肥及び汚泥肥料中のクロピラリド測定，肥料研究報告，**3**，51～59 (2010)

6） 独立行政法人農林水産消費安全技術センター（FAMIC）：肥料等試験法
< http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html >

Determination of Clopyralid, Aminopyralid and Picloram in Compost and Composted Sludge Fertilizer by Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)

Hisanori ARAYA[1], Toshiharu YAGI[2] , Yoshimi HASHIMOTO[2] and Yuji SHIRAI[2]

[1] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department
(Now) Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Food Safety and Consumer Affairs Bureau
[2] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

An analytical method for simultaneous determination of agricultural chemicals (clopyralid, aminopyralid and picloram) in cattle manure compost and composted sludge fertilizer containing pig or cattle manure by liquid chromatography electrospray ionization-tandem mass spectrometry (LC/ESI-MS/MS) was developed. The agricultural chemicals were extracted with methanol under alkaline condition. The extract were purified two times with copolymer cartridge columns on different pH conditions, and analyzed by LC/ESI-MS/MS. The LC separation was carried out on a C18 column using solvent gradient with formic acid solution (1+1,000) and methanol as a mobile phase. The determination was performed in selected reaction monitoring (SRM) mode. As a result of 3 replicate analysis of 5 fertilizer samples (2 kinds of cattle manure compost, 2 kinds of compost sludge fertilizer containing cattle manure and 1 kind of compost sludge fertilizer containing pig or cattle manure) spiked with each agricultural chemical at 40, 400 and 1000 µg/kg, the mean recoveries and the relative standard deviations (RSD) were 71.2 ~117.6 % and 1.1~10.7 %, respectively. On the basis of 7 replicate measurements of spiked samples, the LOQ values were about 10 µg/kg as agricultural chemicals in the compost or the fertilizer. Those results indicated that the developed method was valid for the determination of these agricultural chemicals.

Key words clopyralid, aminopyralid, picloram, compost, composted sludge fertilizer,
liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)

(Research Report of Fertilizer, **7**, 1~9, 2014)

2 高速液体クロマトグラフ（HPLC）法による肥料中のメラミン及びその関連物質の同時測定

－共同試験成績－

坂東悦子[1]，甲斐茂浩[1]

キーワード メラミン，アンメリン，アンメリド，シアヌル酸，石灰窒素，肥料，高速液体クロマトグラフ，共同試験

1. はじめに

今般，石灰窒素（肥料・農薬）のうち石灰窒素粉状品に水を加えて造粒した粒状製品について，メラミンの含有量が高い製品があることが確認された[1)]．メラミンは作物によっては吸収し蓄積することがあり[2)]，メラミンとその関連物質であるシアヌル酸が同時に生体内に取り込まれることで健康被害を引き起こすことが知られている[3)]．

肥料中のメラミン及びその関連物質であるアンメリン，アンメリド及びシアヌル酸（以下「メラミン等」という．）の分析法として，誘導体化操作を必要としない迅速で汎用性のある試験法として HPLC 法が検討され，有機質を含まない肥料について繰返し精度，定量下限等の検討を行った結果，単一試験室内における試験方法の妥当性が確認されたところである[4)]．

今回，HPLC 法による有機質を含まない肥料中のメラミン等の同時測定法の性能評価のため，共通試料を用いて共同試験を実施し，試験室間の再現精度を調査したので，その概要を報告する．

2. 材料及び方法

1） 共同試験用試料の調製

流通している石灰窒素，化成肥料及び硫酸アンモニアを収集し，それぞれ目開き 500 µm のふるいを通過するまで粉砕したものにメラミン等を添加し，よく混合して 5 種類の濃度の共同試験用試料を調製した．

共同試験用試料は約 0.8 g をラミジップ袋に入れ密封してそれぞれ 50 袋を調製した．ブラインド試料を提供するため，共同試験用試料の袋に乱数を付し，それぞれ 2 袋（合計 10 袋）を参加試験室に配付した．

2） 装置及び器具

各試験室に設置している高速液体クロマトグラフ，超音波発生器，遠心分離機及び高速遠心分離機を使用した．

3） メラミン等の測定

分析試料 0.50 g をはかりとり，共栓三角フラスコ 200 mL に入れた．塩酸（1+15）100 mL 加え，超音波発生器

[1] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター札幌センター

を用いて30分間超音波処理を行った．静置後，上澄み液を50 mL容の共栓遠心沈殿管にとり，2,000×gで約5分間遠心分離し，上澄み液を抽出液とした．抽出液の一定量を50 mL容の全量フラスコにとり，標線までアセトニトリル－りん酸塩緩衝液（4+1）を加えて希釈した．希釈液を1.5 mL容の共栓遠心沈殿管にとり，8,000×gで約5分間遠心分離し，上澄み液をHPLC測定用試料溶液とした（Scheme. 1）．その試料溶液を高速液体クロマトグラフに供し，Table 1の測定条件で測定し，ピーク面積から試料溶液中のメラミン等の量を求め，分析試料中のメラミン等の濃度を算出した．

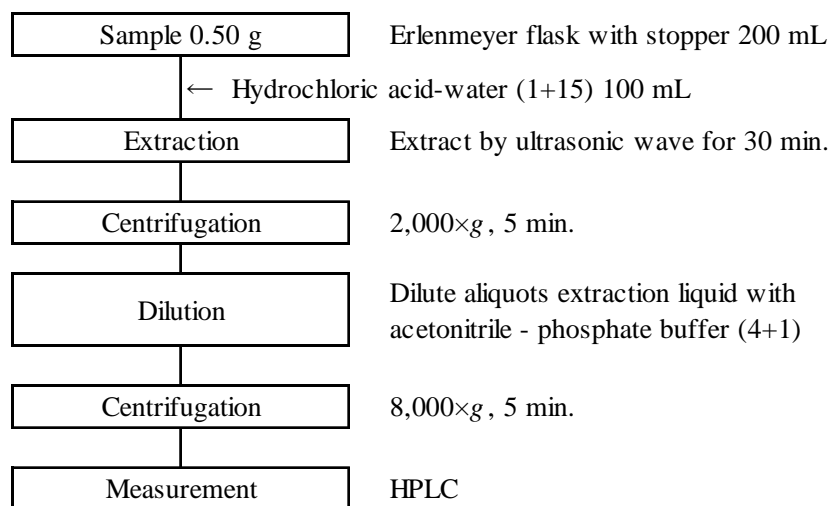
測定に当たっては，各試験室の高速液体クロマトグラフの操作方法に従った．

Scheme 1 Method flow sheet of melamine and related substances in fertilizer

Table 1 HPLC conditions

Column	TOSOH corporation TSKgel Amide-80 (4.6 mm i.d.×250 mm L, 5 µm particle size)
Guard column	TOSOH corporation TSKgel guardgel Amide-80 (3.2 mm×15 mm)
Column temperatures	40 ℃±1 ℃
Mobile phase	Acetonitrile - phosphate buffer (4+1)
Flow rate	1.0 mL/min
Detector system	UV detector at a wavelangth of 214 nm

4） 共同試験用試料の均質性試験

IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル[5)]の均質性試験に従い，各系列の共同試験用試料からそれぞれ10試料を抜き取り，各試料につき2点併行で3）に従って分析した．

5） 共同試験

試験に参加した 11 試験室と使用した高速液体クロマトグラフは以下のとおりであり，それぞれの試験室において送付した10試料について3）に従って分析した．

- 一般財団法人材料科学技術振興財団（Waters 2695 Series）
- 株式会社島津製作所（島津製作所 Prominence Series）

・ コープエンジニアリング株式会社　新潟分析センター（島津製作所　Prominence Series）
・ 東ソー株式会社（島津製作所　LC-30A 及び LC-20A Series）
・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター（Waters 2695 Series）
・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター札幌センター（島津製作所　LC-10A Series）
・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター（Agilent technologies 1100 Series）
・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター名古屋センター（Waters 2487　デュアルλ）
・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター福岡センター（Agilent technologies 1100 Series）
・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター本部（Waters 2695 Series）
・ 日本ウォーターズ株式会社（Waters 2695 Series）

（50 音順）

3．結果及び考察

1） 共同試験用試料の均質性確認

均質性試験の成績及び繰返し 2 回×10 試料の一元配置分散分析から得られた統計量を Table 2-1～2-4 に示した．硫酸アンモニア中のシアヌル酸を除いたいずれの試料においても，F 値が F(9, 10；0.05)を下回ったことから，有意水準 5 %において試料間に有意な差は認められず[5]，共同試験に用いることができる均質性を有していることを確認した．硫酸アンモニア中のシアヌル酸については有意水準 5 %において試料間に有意な差は認められたが，併行精度を含む試料間相対標準偏差が 3.8 %と十分に満足する値であり，共同試験に用いることが出来る均質性を有していることを確認した．

Table 2-1 Homogeneity test results of melamine

Sample	No. of sample[1]	Mean[2] (%)[3]	s_r[4] (%)[3]	RSD_r[5] (%)	s_{bb}[6] (%)[3]	s_{b+r}[7] (%)[3]	RSD_{b+r}[8] (%)	F Value[9)10)]
Calcium cyanamide 1	10 (0)	2.76	0.02	0.8	0.02	0.03	1.1	2.85
Calcium cyanamide 2	10 (0)	0.378	0.005	1.3	0.003	0.005	1.4	1.58
Compound fertilizer containing Calcium cyanamide	10 (0)	0.852	0.022	2.6	0.022	0.031	3.7	2.96
Compound fertilizer	10 (0)	0.186	0.002	1.3	0	0.002	1.3	0.39
Ammonium sulfate	10 (0)	0.0366	0.0012	3.3	0	0.0012	3.3	0.99

1) The number of samples used for analysis; ( ): The number of outliers
2) Grand mean value (n=The number of samples used for analysis×The number of repetition times (2))
3) Mass fraction
4) Standard deviation of repeatability
5) Relative standard deviation of repeatability
6) Standard deviation of sample-to-sample
7) Standard devitation of sample-to-sample include repeatability $s_{\mathrm{b+r}} = \sqrt{s_{\mathrm{bb}}{}^2 + s_{\mathrm{r}}{}^2}$
8) Relative standard deviation of sample-to-sample include repeatability
9) F value calculated based on analysis of variance (ANOVA)
10) F critical value: F(9,10:0.05)=3.02

Table 2-2 Homogeneity test results of ammeline

Sample	No. of sample[1)]	Mean[2)] (%)[3)]	s_r[4)] (%)[3)]	RSD_r[5)] (%)	s_{bb}[6)] (%)[3)]	s_{b+r}[7)] (%)[3)]	RSD_{b+r}[8)] (%)	F Value[9)10)]
Calcium cyanamide 1	10 (0)	1.52	0.01	0.6	0.00	0.01	0.6	1.03
Calcium cyanamide 2	10 (0)	0.104	0.001	1.2	0.001	0.002	1.5	1.82
Compound fertilizer containing Calcium cyanamide	10 (0)	0.707	0.019	2.7	0.017	0.025	3.6	2.57
Compound fertilizer	10 (0)	0.194	0.002	0.9	0.000	0.002	0.9	1.01
Ammonium sulfate	10 (0)	0.0367	0.0011	3.1	0	0.0011	3.1	0.47

1)~10) Refer to the footnote of Table 2-1

Table 2-3 Homogeneity test results of ammelide

Sample	No. of sample[1)]	Mean[2)] (%)[3)]	s_r[4)] (%)[3)]	RSD_r[5)] (%)	s_{bb}[6)] (%)[3)]	s_{b+r}[7)] (%)[3)]	RSD_{b+r}[8)] (%)	F Value[9)10)]
Calcium cyanamide 1	10 (0)	1.12	0.02	1.8	0.02	0.03	2.3	2.37
Calcium cyanamide 2	10 (0)	0.367	0.011	3.1	0	0.011	3.1	0.56
Compound fertilizer containing Calcium cyanamide	10 (0)	0.181	0.006	3.3	0.005	0.007	4.1	2.16
Compound fertilizer	10 (0)	0.724	0.025	3.5	0.012	0.028	3.9	1.48
Ammonium sulfate	10 (0)	0.0354	0.0038	10.7	0.0017	0.0042	11.7	1.52

1)~10) Refer to the footnote of Table 2-1

Table 2-4 Homogeneity test results of cyanuric acid

Sample	No. of sample[1)]	Mean[2)] (%)[3)]	s_r[4)] (%)[3)]	RSD_r[5)] (%)	s_{bb}[6)] (%)[3)]	s_{b+r}[7)] (%)[3)]	RSD_{b+r}[8)] (%)	F Value[9)10)]
Calcium cyanamide 1	10 (0)	1.07	0.01	1.2	0	0.01	1.2	0.67
Calcium cyanamide 2	10 (0)	0.404	0.011	2.8	0	0.011	2.8	0.76
Compound fertilizer containing Calcium cyanamide	10 (0)	0.115	0.003	3.0	0.001	0.004	3.1	1.06
Compound fertilizer	10 (0)	0.799	0.011	1.4	0.011	0.016	2.0	2.96
Ammonium sulfate	10 (0)	0.0374	0.0009	2.4	0.0011	0.0014	3.8	4.22

1)~10) Refer to the footnote of Table 2-1

2） 共同試験成績及び外れ値検定

各試験室から報告された共同試験成績を Table 3 に示した．各系列の分析試料の結果を IUPAC の共同試験プロトコル[6)]に従って統計処理した．1 試験室よりプロトコル逸脱によるシアヌル酸の異常値が報告されたため，5

種類全ての試料において 1 試験室のシアヌル酸の試験成績を除外した．プロトコル逸脱による異常値は，溶離液の比率をアセトニトリル－5 mmol/L りん酸塩緩衝液（4+1）から（78+22）に変更したこと及びカラムの劣化によるジシアンジアミドのピークのテーリングが大きいことにより，ジシアンジアミドのテーリングにシアヌル酸のピークが重なったことにより生じた分離不十分によるものであった．同様に溶離液の比率を変更して試験を実施した試験室が 1 試験室あったが，ジシアンジアミドとシアヌル酸のピークの分離が十分であったため，分析値として採用した．プロトコル逸脱による異常値を除外した後，試験成績の外れ値を検出するために Cochran の検定及び Grubbs の検定を実施した結果，11 試験室の試験成績のうちメラミンについては 2 種類の試料で各 2 試験室及び 2 種類の試料で各 1 試験室，アンメリンについては 2 種類の試料で各 2 試験室及び 2 種類の試料で各 1 試験室，アンメリドについては 2 種類の試料で各 2 試験室，シアヌル酸については 3 種類の試料で各 1 試験室の試験成績が外れ値として判定された．

Table 3-1　Individual result of melamine　　(mass %)

Lab ID[1)]	Calcium cyanamide 1		Calcium cyanamide 2		Compound fertilizer containing Calcium cyanamide		Compound fertilizer		Ammonium sulfate	
A	2.74	2.81	0.384	0.380	0.828	0.837	0.202	0.208	0.0405	0.0383
B	2.82 [2)]	2.36 [2)]	0.383	0.383	0.853	0.831	0.203	0.198	0.0392	0.0365
C	2.85	2.85	0.396	0.395	0.877	0.860	0.199	0.195	0.0318	0.0297
D	3.05	3.02	0.440	0.435	1.10 [3)]	0.962 [3)]	0.216	0.212	0.0589 [2)]	0.0472 [2)]
E	2.96	2.96	0.405	0.401	0.907	0.843	0.207	0.201	0.0374	0.0384
F	2.77	2.80	0.354	0.361	0.807	0.815	0.170	0.171	0.0267	0.0285
G	2.80	2.76	0.410 [2)]	0.378 [2)]	0.860	0.827	0.181	0.190	0.0373	0.0338
H	2.83	2.90	0.400	0.404	0.880	0.888	0.208	0.209	0.0365	0.0340
I	2.69	2.81	0.393	0.391	0.868	0.863	0.198	0.195	0.0348	0.0353
J	2.62	2.64	0.362	0.363	0.777	0.786	0.197	0.192	0.0336	0.0335
K	2.37 [2)]	1.61 [2)]	0.391	0.399	0.845 [2)]	0.501 [2)]	0.191	0.209	0.0287	0.0314

1) Laboratory identification
2) Outlier of Cochran
3) Outlier of Grubbs

Table 3-2 Individual result of ammeline (mass %)

Lab ID[1)]	Calcium cyanamide 1		Calcium cyanamide 2		Compound fertilizer containing Calcium cyanamide		Compound fertilizer		Ammonium sulfate	
A	1.53	1.57	0.105	0.103	0.585 [3)]	0.591 [3)]	0.192	0.187	0.0381	0.0341
B	1.58 [2)]	1.37 [2)]	0.106	0.106	0.635	0.622	0.196	0.192	0.0378	0.0356
C	1.59	1.58	0.102	0.101	0.634	0.630	0.195	0.194	0.0311	0.0290
D	1.48	1.47	0.104	0.105	0.685	0.581	0.191	0.191	0.0457 [2)]	0.0292 [2)]
E	1.64	1.65	0.106	0.108	0.656	0.610	0.200	0.195	0.0368	0.0372
F	1.62	1.63	0.102	0.103	0.619	0.627	0.185	0.189	0.0320	0.0323
G	1.68	1.67	0.115 [2)]	0.105 [2)]	0.648	0.645	0.212	0.214	0.0345	0.0326
H	1.61	1.65	0.104	0.107	0.629	0.635	0.197	0.199	0.0345	0.0330
I	1.57	1.63	0.108	0.108	0.641	0.631	0.199	0.199	0.0360	0.0365
J	1.62	1.63	0.107	0.106	0.598	0.601	0.204	0.193	0.0355	0.0350
K	1.24 [2)]	0.91 [2)]	0.110	0.106	0.557 [2)]	0.307 [2)]	0.175	0.187	0.0345	0.0354

1) Laboratory identification
2) Outlier of Cochran
3) Outlier of Grubbs

Table 3-3 Individual result of ammelide (mass %)

Lab ID[1)]	Calcium cyanamide 1		Calcium cyanamide 2		Compound fertilizer containing Calcium cyanamide		Compound fertilizer		Ammonium sulfate	
A	1.02	1.10	0.364	0.359	0.185	0.183	0.660	0.699	0.0388	0.0382
B	1.21 [2)]	0.929 [2)]	0.367	0.357	0.193	0.185	0.695	0.716	0.0424	0.0348
C	1.13	1.11	0.368	0.365	0.198	0.195	0.747	0.700	0.0284	0.0302
D	1.19	1.17	0.411	0.404	0.246 [2)]	0.214 [2)]	0.790	0.782	0.0460	0.0437
E	1.15	1.14	0.373	0.377	0.207	0.192	0.772	0.777	0.0377	0.0356
F	1.21	1.23	0.357	0.368	0.202	0.205	0.745	0.721	0.0299	0.0372
G	0.988	1.01	0.353	0.327	0.163	0.165	0.716	0.749	0.0358	0.0306
H	1.13	1.16	0.331	0.349	0.187	0.189	0.784	0.718	0.0337	0.0290
I	1.06	1.08	0.373	0.374	0.201	0.200	0.747	0.705	0.0330	0.0387
J	0.983	0.969	0.322	0.317	0.170	0.169	0.641	0.630	0.0313	0.0298
K	1.04 [2)]	0.522 [2)]	0.358	0.365	0.189 [2)]	0.108 [2)]	0.611	0.684	0.0266	0.0268

1) Laboratory identification
2) Outlier of Cochran

Table 3-4 Individual result of cyanuric acid (mass %)

Lab ID[1)]	Calcium cyanamide 1		Calcium cyanamide 2		Compound fertilizer containing Calcium cyanamide		Compound fertilizer		Ammonium sulfate	
A	1.06	1.14	0.398	0.417	0.130	0.124	0.685	0.720	0.0375	0.0367
B	1.03	0.971	0.359	0.342	0.0807	0.0835	0.841	0.827	0.0415	0.0408
C	1.24	1.28	0.397	0.433	0.0965	0.102	0.846	0.852	0.0336	0.0330
D	1.23	1.21	0.408	0.411	0.122	0.119	0.776	0.818	0.0530	0.0502
E	1.25	1.07	0.335	0.391	0.104	0.100	0.831 [2)]	0.665 [2)]	0.0359	0.0345
F	1.17	1.21	0.383	0.360	0.0935	0.0892	0.819	0.750	0.0287	0.0294
G	1.03 [4)]	0.977 [4)]	0.241 [4)]	0.252 [4)]	0.0454 [4)]	0.0486 [4)]	0.740 [4)]	0.744 [4)]	0.0295 [4)]	0.0278 [4)]
H	1.21	1.23	0.412	0.412	0.110	0.107	0.831	0.818	0.0363	0.0320
I	1.10	1.19	0.405	0.409	0.105	0.108	0.827	0.820	0.0378	0.0414
J	1.09	1.10	0.395	0.416	0.107	0.102	0.744	0.735	0.0337	0.0347
K	0.928 [2)]	0.541 [2)]	0.350	0.360	0.0854 [2)]	0.0422 [2)]	0.710	0.769	0.0284	0.0303

1) Laboratory identification
2) Outlier of Cochran
4) Unexpected value deviated from a protocol

3） 併行精度及び室間再現精度

試験成績より算出した平均値，併行標準偏差（s_r）及び併行相対標準偏差（RSD_r）値，並びに室間再現標準偏差（s_R），室間再現相対標準偏差（RSD_R）及び室間再現 HorRat 値を Table 4-1～Table 4-4 に示した．室間再現 HorRat 値は食品分析分野の化学分析方法の精度の評価をするために用いられており，現在のところ肥料に使用している事例は少ないが参考に記載した．HorRat 値は $RSD_R/PRSD_R$ により求められる．なお，$PRSD_R$ は平均定量値から Horwitz 修正式[7)]により求めた．

メラミンの平均値は 0.0343 %（質量分率）～2.83 %（質量分率）であり， その併行標準偏差は 0.0015 %（質量分率）～0.04 %（質量分率），併行相対標準偏差は 0.8 %～4.5 %，室間再現標準偏差は 0.0040 %（質量分率）～0.12 %（質量分率），室間再現相対標準偏差は 4.2 %～11.6 %であった．

アンメリンの平均値は 0.0346 %（質量分率）～1.60 %（質量分率）であり， その併行標準偏差は 0.0013 %（質量分率）～0.027 %（質量分率），併行相対標準偏差は 1.3 %～4.3 %，室間再現標準偏差は 0.0024 %（質量分率）～0.06 %（質量分率），室間再現相対標準偏差は 2.3 %～6.9 %であった．

硫酸アンモニアを除くアンメリドの平均値は 0.188 %（質量分率）～1.10 %（質量分率）であり， その併行標準偏差は 0.004 %（質量分率）～0.028 %（質量分率），併行相対標準偏差は 2.1 %～3.9 %，室間再現標準偏差は 0.052 %（質量分率）～0.08%（質量分率），室間再現相対標準偏差は 6.5 %～7.6 %であった．硫酸アンモニア中のアンメリドの平均値は 0.0345 %（質量分率）であり， その併行標準偏差は 0.0031 %（質量分率），併行相対標準偏差は 8.9 %，室間再現標準偏差は 0.0056 %（質量分率），室間再現相対標準偏差は 16.1 %であった．

硫酸アンモニアを除くシアヌル酸の平均値は 0.105 %（質量分率）～1.15 %（質量分率）であり， その併行標準偏差は 0.003 %（質量分率）～0.06 %（質量分率），併行相対標準偏差は 2.9 %～4.8 %，室間再現標準偏差は 0.014 %（質量分率）～0.09 %（質量分率），室間再現相対標準偏差は 6.8 %～13.2 %であった．硫酸アンモニア中のシアヌル酸の平均値は 0.0365 %（質量分率）であり， その併行標準偏差は 0.0015 %（質量分率），併行相対標準偏差は 4.2 %，室間再現標準偏差は 0.0067 %（質量分率），室間再現相対標準偏差は 18.3 %であった．

メラミン及びアンメリンについては，共同試験のすべての共同試験用試料（濃度範囲）でほぼ満足する室間再現精度が得られた．しかしながら，硫酸アンモニア中のアンメリド及びシアヌル酸の室間再現精度が比較的大きな値を示した．このため，均質性確認試験成績及び共同試験成績を比較し，更に硫酸アンモニアより調製されたクロマトグラムを確認し，この原因を調査した．硫酸アンモニア中のこれらの均質性確認試験及び共同試験の平均値は，アンメリドが 0.0354 %（質量分率）及び 0.0345 %（質量分率）で，シアヌル酸が 0.0374 %（質量分率）及び 0.0365 %（質量分率）であり，均質性確認試験実施から共同試験実施の期間における化学変化によるこれらの濃度の変動があるとは考えられなかった．また，均質性確認試験の試料間再現標準偏差及び共同試験の併行標準偏差は，アンメリドが 0.0042 %（質量分率）及び 0.0031 %（質量分率）で，シアヌル酸が 0.0014 %（質量分率）及び 0.0015 %（質量分率）であり，大きな差は認められなかった．共同試験の併行標準偏差は試料間の要因も含むことから，均質性確認試験の試料間再現標準偏差と同じ要因となる．ゆえに，これらの試験の実施期間における試料間のばらつきの要因の変動及び各試験室おける試料間を含む室内精度の差は認められず，共同試験に不具合があったとは考えられない．次に，硫酸アンモニウムから調製した試料溶液のクロマトグラム（Fig.1）を確認したところ，アンメリド及びシアヌル酸のピークの近傍にそれらの定量値に影響する夾雑ピーク及びベースラインのドリフトは認められなかった．硫酸アンモニアは単体肥料であり，複合肥料ではより多くの夾雑成分が抽出され，測定値により大きな影響が考えられることから，硫酸アンモニア中の濃度レベルのアンメリド及びシアヌル酸の室間再現精度は不満足とし，妥当性確認された濃度範囲としなかった．

Table 4-1 Statistical analysis of collaborative study results for melamine

Sample	No. of labs p (q)[1]	Mean[2] (%)[3]	s_r[4] (%)[3]	RSD$_r$[5] (%)	s_R[6] (%)[3]	RSD$_R$[7] (%)	HorRat[8]
Calcium cyanamide 1	9 (2)	2.83	0.04	1.4	0.12	4.3	1.27
Calcium cyanamide 2	10 (1)	0.391	0.003	0.8	0.023	5.8	1.25
Compound fertilizer containing calcium cyanamide	9 (2)	0.845	0.019	2.2	0.036	4.2	1.03
Compound fertilizer	11 (0)	0.198	0.005	2.6	0.012	6.2	1.22
Ammonium sulfate	10 (1)	0.0343	0.0015	4.5	0.0040	11.6	1.74

1) Number of laboratories, where p=number of laboratories retained after outlier removed and (q)=number of outliers.
2) Grand mean value (n=The number of participating testing laboratoried (p)×The number of times of repetition (2))
3) Mass fraction
4) Standard deviation of repeatability
5) Relative standard deviation of repeatability
6) Standard deviation of reproducibility
7) Relative standard deviation of reproducibility
8) Horwitz ratio of reproducibility

Table 4-2 Statistical analysis of collaborative study results for ammeline

Sample	No. of labs p (q)[1]	Mean[2] (%)[3]	s_r[4] (%)[3]	RSD_r[5] (%)	s_R[6] (%)[3]	RSD_R[7] (%)	HorRat[8]
Calcium cyanamide 1	9 (2)	1.60	0.02	1.3	0.06	3.8	1.02
Calcium cyanamide 2	10 (1)	0.105	0.001	1.3	0.002	2.3	0.41
Compound fertilizer containing calcium cyanamide	9 (2)	0.629	0.027	4.3	0.023	3.7	0.86
Compound fertilizer	11 (0)	0.195	0.004	2.1	0.009	4.5	0.87
Ammonium sulfate	10 (1)	0.0346	0.0013	3.7	0.0024	6.9	1.04

1)~8) Refer to the footnote of Table 4-1

Table 4-3 Statistical analysis of collaborative study results for ammelide

Sample	No. of labs p (q)[1]	Mean[2] (%)[3]	s_r[4] (%)[3]	RSD_r[5] (%)	s_R[6] (%)[3]	RSD_R[7] (%)	HorRat[8]
Calcium cyanamide 1	9 (2)	1.10	0.02	2.1	0.08	7.6	1.92
Calcium cyanamide 2	11 (0)	0.361	0.008	2.2	0.023	6.5	1.39
Compound fertilizer containing Calcium cyanamide	9 (2)	0.188	0.004	2.2	0.014	7.5	1.46
Compound fertilizer	11 (0)	0.718	0.028	3.9	0.052	7.2	1.72
Ammonium sulfate	11 (0)	0.0345	0.0031	8.9	0.0056	16.1	2.43

1)~8) Refer to the footnote of Table 4-1

Table 4-4 Statistical analysis of collaborative study results for cyanuric acid

Sample	No. of labs p (q)[1]	Mean[2] (%)[3]	s_r[4] (%)[3]	RSD_r[5] (%)	s_R[6] (%)[3]	RSD_R[7] (%)	HorRat[8]
Calcium cyanamide 1	9 (2)	1.15	0.06	4.8	0.09	7.7	1.97
Calcium cyanamide 2	10 (1)	0.390	0.018	4.5	0.029	7.4	1.61
Compound fertilizer containing Calcium cyanamide	9 (2)	0.105	0.003	2.9	0.014	13.2	2.35
Compound fertilizer	9 (2)	0.788	0.026	3.2	0.054	6.8	1.65
Ammonium sulfate	10 (1)	0.0365	0.0015	4.2	0.0067	18.3	2.78

1)~8) Refer to the footnote of Table 4-1

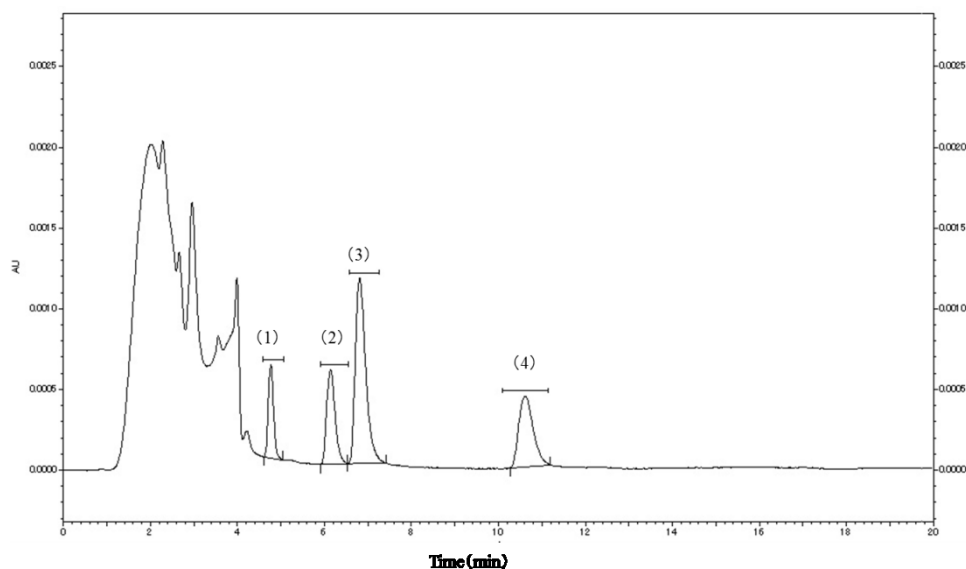



Fig.1　HPLC chromatogram of melamine and its related substances in ammonium sulfate
Substance name　(1) Cyanuric acid　(2) Ammelide　(3) Melamine　(4) Ammeline

4.　まとめ

11 試験室において 5 種類（10 点）の石灰窒素，化成肥料及び硫酸アンモニアを用いて共同試験を実施し，高速液体クロマトグラフ（HPLC）法による肥料中のメラミン及びその関連物質の測定法の評価を行った．その結果，メラミンの平均値 0.0343 %（質量分率）～2.83 %（質量分率）において室間再現精度（相対標準偏差）は 4.2 %～11.6 %，アンメリンの平均値 0.0346 %（質量分率）～1.60 %（質量分率）において室間再現精度（相対標準偏差）は 2.3 %～6.9 %であり，試験室間の比較による本試験法のメラミン及びアンメリンの室間再現精度はこれらの濃度範囲で満足な成績であった．アンメリドの平均値 0.188 %（質量分率）～1.10 %（質量分率）において室間再現精度（相対標準偏差）は 6.5 %～7.6 %，シアヌル酸の平均値 0.105 %（質量分率）～1.15 %（質量分率）において室間再現精度（相対標準偏差）は 6.8 %～13.2 %であり，試験室間の比較による本試験法のアンメリド及びシアヌル酸の室間再現精度はこれらの濃度範囲で満足な成績であった．硫酸アンモニア中のアンメリドの平均値 0.0345 %（質量分率）において室間再現精度（相対標準偏差）は 16.1 %，シアヌル酸の平均値 0.0365 %（質量分率）において室間再現相対標準偏差は 18.3 %であり、この濃度範囲において満足な成績は得られなかった．

石灰窒素及び石灰窒素を原料とする肥料のメラミンについては，平成 25 年 3 月 25 日付けで農林水産省消費・安全局より暫定許容値を 0.4 %とする旨通知されている[8)]．本共同試験の結果より，0.4 %程度のメラミン及びその関連物質を含む肥料（有機質肥料を含まない）の測定は十分に可能であることが確認された．

謝　辞

一般財団法人材料科学技術振興財団，株式会社島津製作所，コープエンジニアリング株式会社新潟分析センター，東ソー株式会社及び日本ウォーターズ株式会社の各位に謝意を表します．

文　献

1） 農林水産省消費・安全局農産安全管理課長通知：メラミンを含む石灰窒素（水和造粒品）の当面の取扱いについて, 平成 23 年 4 月 15 日, 23 消安第 524 号（2011）

2） 阿部文浩, 八木寿治, 坂東悦子：メラミンを添加した土壌におけるコマツナに対する害の確認試験とメラミン等の吸収, 肥料研究報告, **5**, 101~107（2012）

3） 食品安全委員会：メラミン等による健康影響について, 平成 20 年 10 月 9 日 （2008）

4） 坂東悦子, 白井裕治：高速液体クロマトグラフ（HPLC）法による肥料中のメラミン及びその関連物質の同時測定, 肥料研究報告, **6**, 27~35（2013）

5）Thompson, M., L. R. Ellison S., Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories, *Pure & Appl. Chem.*, **78**（1）, 145~196（2006）

6）Horwitz W. : Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, *Pure & Appl. Chem.*, **67**（2）, 331~343（1995）

7） Thompson, M.: Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing, *Analyst*, **125**, 385~386（2000）

8）農林水産省消費・安全局長通知：石灰窒素中のメラミンの暫定許容値の設定について, 平成 25 年 3 月 25 日, 24 消安第 6116 号（2013）

Determination of Melamine and Its Related Substances in Fertilizer by High Performance Liquid Chromatography（HPLC）: A Collaborative Study

Etsuko BANDO[1] and Sigehiro KAI[1]

[1] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sapporo Regional Center

A collaborative study was conducted to evaluate high performance liquid chromatography (HPLC) for determination of melamine and its related substances in fertilizers. The melamine and its related substances were extracted with hydrochloric acid-water (1+15). The extract was centrifuged, and a portion of the supernatant was diluted with mobile phase. The melamine and its related substances were analyzed by HPLC on carbamoyl-modified silica gel column with UV detection at 214 nm. Eleven collaborators were sent 5 sample materials in a blind duplicate design. After identification of outliers with Cochran’s test and Grubbs’ test, the mean values and the reproducibility relative standard deviation (RSD_R) of determination of melamine were reported 0.0343 %～2.83 % and 4.2 %～11.6 %, respectively. Those of determination of ammeline were reported 0.0346 %～1.60 % and 2.3 %～6.9 %, respectively. Those of determination of ammelide were reported 0.188 %～1.10 % and 6.5 %～7.6 %, respectively. Those of determination of cyanuric acid were reported 0.105 %～1.15 % and 6.8 %～13.2 %, respectively. These results indicated that this method has acceptable precision for determination of melamine, ammeline, ammelide and cyanuric acid in this density range. The mean values and the RSD_R of determination of ammelide in ammonium sulfate were reported 0.0345 % and 16.1 %, respectively. Those of determination or cyanuric acid in ammonium sulfate were reported 0.0365 % and 18.3 %, respectively. These results didn’t indicate that this method has acceptable precision for determination of ammelide and cyanuric acid in this density range.

Key words melamine, ammeline, ammelide, cyanuric acid, calcium cyanamid, fertilizer, HPLC, collaborative study

(Research Report of Fertilizer, **7**, Collaborative Study 10~21, 2014)

3　燃焼法による汚泥肥料及び堆肥中の有機炭素の測定

—共同試験成績—

矢野愛子[1]，白井裕治[2]

キーワード　有機炭素，汚泥肥料，堆肥，燃焼法，共同試験

1. はじめに

農林水産消費安全技術センター（FAMIC）では，肥料分析法[1)]との整合性に配慮しながら新たに試験法の妥当性確認を行い「肥料等試験法」[2)]を策定し，肥料試験業務等への活用を進めている．燃焼法は汚泥肥料及び堆肥中の有機炭素の新たな試験法として検討され，現行法である二クロム酸酸化法との比較並びに繰返し精度及び定量下限等の検討の結果，試験室内における試験方法の妥当性が確認されたところである[3)]．

今回，汚泥肥料及び堆肥中の有機炭素の定量における燃焼法の性能評価のため，共通試料を用いて共同試験を実施し，試験室間の再現精度を調査したので，その概要を報告する．

2.　材料及び方法

1）共同試験用試料の調製

汚泥発酵肥料 1 点，し尿汚泥肥料 1 点，焼成汚泥肥料 1 点，工業汚泥肥料 1 点及び堆肥 1 点（計 5 点）を収集した．40 ℃で 60～70 時間又は 65 ℃で 5～24 時間乾燥し，それぞれ目開き 500 µm のふるいを全通するまで粉砕して共同試験用試料とし，約 0.09 g をチャック付きポリ袋に採取密封してそれぞれ 50 袋を調製した．

ブラインド試料を提供するため，共同試験用試料の袋に乱数を付し，それぞれ 2 袋（合計 10 袋）を参加試験室に配付した．

2）装置及び器具

各試験室に設置している燃焼法全窒素全炭素測定装置，ホットプレート及び乾燥器を使用した．

3）有機炭素量の測定

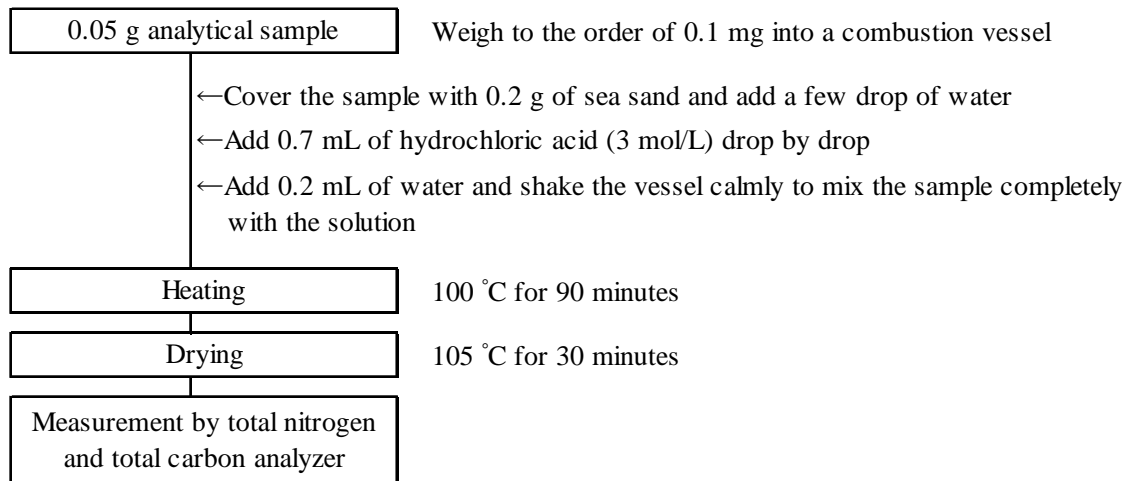
分析試料 0.05 g を 0.1 mg のけたまで燃焼用容器にはかりとり，海砂 0.2 g 程度で試料を覆い，数滴の水を滴下して試料を湿らせた．塩酸 (3 mol/L) 0.7 mL 程度を少しずつ滴下した後，更に水 0.2 mL 程度を滴下し石英ボートを揺すって分析試料を塩酸溶液に完全に接触させた．なお，塩酸添加時に発泡する場合は少時静置した．100 ℃のホットプレートで 90 分間加熱乾固し，105 ℃の定温乾燥器で 30 分間加熱乾燥し塩酸を完全に除去した後，Table 1 の測定条件の装置を用いて分析試料中の有機炭素量を測定した（Scheme 1）．

測定にあたって，プログラム及びパラメータ等の設定は，各試験室の燃焼法全窒素全炭素測定装置の操作方法に従った．

[1] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部（現）福岡センター

[2] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

Table 1 Analytical conditions for total nitrogen and total carbon analyzer

Combustion gas	Highly pure oxygen, purity no less than 99.99 v/v%
Carrier gas	Highly pure helium, purity no less than 99.99 v/v%
Combustion temperature	Reaction furnace temperature: 870 ˚C
Separation type	Separation column
Detector	Thermal conductivity detector

Scheme 1 Flow sheet for organic carbon in sludge fertilizer and compost by combustion method

4） 共同試験用試料の均質性確認

IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル[4)]の均質性試験を参考とし，各材料の共同試験用試料からそれぞれ 10 試料を抜き取り，各試料につき 2 点併行で 3）に従って有機炭素量をランダムな順序で測定し，得られた試験成績について統計処理を行った．

5） 共同試験

試験に参加した 9 試験室及び使用した燃焼法全窒素全炭素測定装置は以下のとおりである．それぞれの試験室において，配付した 10 試料について 3）に従って有機炭素量を測定した．

（1） 参加試験室

・岩手県農業研究センター
・株式会社住化分析センター
・全国農業協同組合連合会　営農・技術センター
・独立行政法人農林水産消費安全技術センター　神戸センター
・独立行政法人農林水産消費安全技術センター　札幌センター
・独立行政法人農林水産消費安全技術センター　仙台センター
・独立行政法人農林水産消費安全技術センター　名古屋センター
・独立行政法人農林水産消費安全技術センター　本部規格検査部　分析調査課
・独立行政法人農林水産消費安全技術センター　本部肥飼料安全検査部　肥料鑑定課
（50 音順）

（2）使用した燃焼法全窒素全炭素測定装置
　住化分析センター製　SUMIGRAPH　NC-220F

3．　結果及び考察

1）　共同試験用試料の均質性確認

均質性確認の試験成績について，堆肥において Cochran 検定による外れ値が判定されたためこれを除外し，残りの試験成績について各材料繰返し2回×10(9)試料の一元配置分散分析を実施し得られた統計量をTable 2に示した．併行相対標準偏差 RSD_r 及び併行精度を含む試料間相対標準偏差 RSD_{b+r} は 1.1 %～5.2 %であり，いずれの試料においても F 値が F 限界値を下回ったことから有意水準 5　%で試料間に有意差は認められなかった．これらのことから，共同試験用試料は室間再現標準偏差の推定に用いることのできる十分な均質性を有すると判断した．

Table 2　Homogeneity test results

Sample	No. of sample[1)]	Mean[2)] (%)[3)]	s_r[4)] (%)[3)]	RSD_r[5)] (%)	s_{bb}[6)] (%)[3)]	s_{b+r}[7)] (%)[3)]	RSD_{b+r}[8)] (%)	F value[9)10)]
Calcined sludge fertilizer	10 (0)	8.82	0.46	5.2	0.00	0.46	5.2	0.20
Industrial sludge fertilizer	10 (0)	15.10	0.52	3.4	0.00	0.52	3.4	0.65
Compost	9 (1)	21.46	0.92	4.3	0.00	0.92	4.3	0.58
Human waste sludge fertilizer	10 (0)	36.01	0.39	1.1	0.12	0.41	1.1	1.20
Composted sludge fertilizer	10 (0)	38.19	0.44	1.2	0.00	0.44	1.2	0.67

1) The number of samples used for analysis; ( ): The number of outliers
2) Grand mean value (n=The number of samples used for analysis×The number of repetition (2))
3) Mass fraction
4) Standard deviation of repeatability
5) Relative standard deviation of repeatability
6) Standard deviation of sample-to-sample
7) Standard devitation of sample-to-sample including repeatability　　$s_{b+r}=\sqrt{{s_{bb}}^2+{s_r}^2}$
8) Relative standard deviation of sample-to-sample including repeatability
9) F value calculated based on analysis of variance (ANOVA)
10) F critical value: F(9,10:0.05)=3.02, F(8,9:0.05)=3.23

2）　共同試験成績及び外れ値検定

各試験室から報告された共同試験成績をTable 3に示した．各材料の分析試料の試験成績をIUPACの共同試験プロトコル[5)]及びAOACの共同試験ガイドライン[6)]を参考に統計処理した．工業汚泥肥料について，1 試験室よりプロトコルからの逸脱（塩酸添加時の燃焼用容器からの分析試料のこぼれ落ち）による異常値 1 つが報告されたため，これと対になる試験成績と共に除外した後，外れ値検出のため Cochran 検定及び Grubbs 検定を行った．その結果，し尿汚泥肥料において Cochran 検定によって 1 試験室の試験成績が外れ値と判定された．

Table 3 Individual result of organic carbon in sludge fetilizer and compost (mass %)

Lab ID[1)]	Calcined sludge fertilizer		Industrial sludge fertilizer		Compost		Human waste sludge fertilizer		Composted sludge fertilizer	
A	9.18	9.26	14.90	15.11	21.05	19.87	35.84	35.94	38.81	38.91
B	9.96	9.53	15.72	16.00	22.09	20.63	34.57 [3)]	35.04 [3)]	37.74	37.68
C	9.07	8.88	14.63	14.89	20.95	21.45	34.26	34.31	37.72	37.22
D	9.63	9.69	14.81	14.65	20.19	20.63	34.92	34.96	38.13	37.69
E	9.25	9.19	15.12	15.28	20.66	20.29	35.19	35.19	39.26	39.06
F	8.96	8.99	14.78 [2)]	14.30 [2)]	18.39	19.27	33.87	34.09	37.42	36.93
G	10.07	9.84	14.96	14.73	20.88	18.93	34.86	34.94	37.91	38.54
H	9.63	9.81	15.33	15.79	21.67	20.45	34.97	35.01	38.33	38.18
I	9.37	9.80	14.90	15.28	21.02	20.64	35.53	35.55	38.82	39.25

1) Laboratory identification

2) Invalid datas that were removed due to failure of the operation

3) Outlier of Cochran

Table 4 Statistical analysis of collaborative study results

Sample	No. of labs p (q)[1)]	Mean[2)] (%)[3)]	s_r[4)] (%)[3)]	RSD$_r$[5)] (%)	s_R[6)] (%)[3)]	RSD$_R$[7)] (%)	HorRat[8)]
Calcined sludge fertilizer	9 (0)	9.45	0.17	1.8	0.38	4.0	1.40
Industrial sludge fertilizer	8 (1)	15.13	0.20	1.3	0.42	2.8	1.09
Compost	9 (0)	20.50	0.76	3.7	0.94	4.6	2.08
Human waste sludge fertilizer	8 (1)	34.96	0.07	0.2	0.62	1.8	1.05
Composted sludge fertilizer	9 (0)	38.20	0.27	0.7	0.73	1.9	1.18

1) Number of laboratories, where p =number of laboratories retained after outlier removed and (q)=number of outliers.

2) Grand mean value
(n=The number of participating testing laboratories (p)×The number of repetition (2))

3) Mass fraction

4) Standard deviation of repeatability

5) Relative standard deviation of repeatability

6) Standard deviation of reproducibility

7) Relative standard deviation of reproducibility

8) Horwitz ratio of reproducibility

3） 併行精度及び室間再現精度

異常値及び外れ値を除外した残りの試験成績より算出した平均値，併行標準偏差 s_r，併行相対標準偏差 RSD$_r$，室間再現標準偏差 s_R，室間再現相対標準偏差 RSD$_R$ 及び HorRat 値等を Table 4 に示した．HorRat 値は食品分析分野における化学分析法の性能評価指標の一つであり現在のところ肥料への適用事例は少ないが，参考として算出した．試験成績の平均値は 9.45 %（質量分率）～38.20 %（質量分率）であり，その併行標準偏差は 0.07 %（質量分率）～0.76 %（質量分率），併行相対標準偏差は 0.2 %～3.7 %，室間再現標準偏差は

0.38 %（質量分率）～0.94 %（質量分率），室間再現相対標準偏差は 1.8 %～4.6 %であった.

4. まとめ

9 試験室において 5 材料（10 点）の汚泥肥料及び堆肥を用いて共同試験を実施し，燃焼法による汚泥肥料及び堆肥中の有機炭素試験法の評価を行った．その結果，有機炭素量の平均値 9.45 %（質量分率）～38.20 %（質量分率）において，室間再現精度（相対標準偏差）は 1.8 %～4.6 %であった．試験室間の比較による本試験法の室間再現精度は，炭素窒素比の表示値を求めるための有機炭素の試験法として満足する成績であった．なお，汚泥肥料及び堆肥に表示義務のある炭素窒素比は，有機炭素量を窒素全量で除した値を整数で表記することとされ，誤差の許容範囲は表示値のプラスマイナス 30 パーセントと規定されている[7～10)]．既報により本法と二クロム酸酸化法との比較並びに本法の繰返し精度及び定量下限等の検討がなされている．これらの結果から，燃焼法は汚泥肥料及び堆肥中の有機炭素の定量に用いることのできる十分な性能を有することが確認された.

謝　辞

岩手県農業研究センター，株式会社住化分析センター及び全国農業協同組合連合会営農・技術センターの各位に謝意を表します.

文　献

1）農林水産省農業環境技術研究所：肥料分析法（1992 年版），財団法人日本肥糧検定協会，（1992）

2）独立行政法人農林水産消費安全技術センター（FAMIC）：肥料等試験法 < http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html >

3）矢野愛子，秋元里乃，白井裕治：燃焼法による汚泥肥料及び堆肥中の有機炭素の測定，肥料研究報告，**6**，9～19 (2013)

4）Thompson, M., L. R. Ellison S., Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories, *Pure & Appl. Chem.*, **78** (1), 145~196 (2006)

5）Horwitz W. : Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, *Pure & Appl. Chem.*, **67** (2), 331~343 (1995)

6）AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix D：Guidelines for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL (2005)

7）肥料取締法：昭和 25 年 5 月 1 日，法律第 127 号，最終改正平成 23 年 8 月 30 日，法律第 105 号 (2011)

8）農林水産省令：肥料取締法施行規則，昭和 25 年 6 月 20 日，農林省令第 64 号，最終改正平成 26 年 9 月 1 日，農林水産省令第 47 号 (2014)

9）農林水産省告示：肥料取締法施行規則第十一条の二第一項及び第二項の規定に基づき原料及び材料の保証票への記載に関する事項を定める件，昭和 59 年 3 月 16 日，農林水産省告示第 700 号，最終改正平成 26 年 9 月 1 日，農林水産省告示第 1148 号(2014)

10）農林水産省告示：特殊肥料の品質表示基準，平成 12 年 8 月 31 日，農林水産省告示第 1163 号，最終改正平成 26 年 9 月 1 日，農林水産省告示第 1151 号 (2014)

Determination of Organic Carbon in Sludge Fertilizer and Compost by Hydrochloric Acid-Treated Combustion Method: A Collaborative Study

Aiko YANO[1] and Yuji SHIRAI[2]

[1] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department
(Now) Fukuoka Regional Center
[2] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

A Collaborative study was conducted to evaluate hydrochloric acid-treated combustion method for determination of organic carbon in sludge fertilizer and compost. Analytical sample was treated with dilute hydrochloric acid and dried up before measurement of organic carbon by total nitrogen and total carbon analyzer. Five types of test materials (Human waste sludge fertilizer, Industrial sludge fertilizer, Calcined sludge fertilizer, Composted sludge fertilizer, and Compost) were sent to 9 laboratories in a blind duplicate design. After removal of outlier caused by a failure to follow the method, Cochran and Grubbs tests were conducted and a pair was indicated to be Cochran outlier in Human waste sludge fertilizer. Statistical analysis was conducted for data retained after removal of the outliers. Mean values were in the range of 9.45 % to 38.20 % (mass fraction), and the repeatability relative standard deviation (RSD_r) and the reproducibility relative standard deviation (RSD_R) ranged from 0.2 % to 3.7 %, 1.8 % to 4.6 %, respectively. These results indicated that this method was validated for determination of organic carbon in sludge fertilizer and compost.

Key words organic carbon, sludge fertilizer, compost, combustion method, collaborative study

(Research Report of Fertilizer, **7**, 22~27, 2014)

4　硫黄分全量の試験法

－共同試験成績－

阿部進[1]，鈴木知華[2]，白井裕治[3]

キーワード　肥料，硫黄，硫酸，重量法

1. はじめに

農林水産省告示[1)]により，硫黄及びその化合物は硫黄分全量の表示が義務づけられており，「硫黄分全量については，硫黄燃焼法，塩化バリウム法[2)]等により試料中の三酸化硫黄（SO_3）を定量し，これの試料中の重量に対する百分率（%）とする」と記載されている．このため，流通している製品の硫黄分全量の含有量は 1～249 %（単体硫黄 S の理論値）と幅広い．定量法としては，性状毎に純度試験法が JIS 規格[3, 4)]等に収載されており，生産事業場や分析機関においては製品の性状に適した方法を選択して試験を実施している．

杉村は，硫黄及び硫酸を含む肥料中の硫黄分全量の試験法として，JIS K 8088[3)]に規定されている硫黄（試薬）純度の試験法（塩化バリウム重量法）の適用性を確認するため，測定値に影響する不溶物質の除去方法の検討に加え，繰返し精度及び定量下限等の検討を行った[5)]．その結果，この試験法（塩化バリウム重量法）は単一試験室における妥当性が確認され，2011 年に肥料等試験法[6)]に参考として収載された．

今回，硫黄及び硫酸を主体とする肥料中の硫黄分全量測定における塩化バリウム重量法の性能評価のため，共通試料を用いて共同試験を実施し，試験室間の再現精度を確認したので，その概要を報告する．

2. 材料及び方法

1） 共同試験用試料の調製

粉状試料として，流通している硫黄及び硫黄化合物を含む肥料 4 点（a，b，c，d）を試験品として収集し，目開き 500 µm の網ふるいを通過するまで粉砕して共同試験用試料を調製した．

また，液状試料として，硫酸を水で希釈し，2 濃度（e，f）の共同試験用試料を調製した．

共同試験用試料 a，b，e，f については約 7 g を採取し，c，d については約 1.5 g を採取し，それぞれ容器に充填し密封した．ブラインド試料を提供するため，それぞれの共同試験用試料の容器（各 2 点）にランダムに番号を付し，共同試験用試料（12 点）を参加試験室に送付した．

2） 装置及び器具

各試験室に設置のホットプレート，水浴，乾燥器及び電気炉を使用した．

3） 測定

[1] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター （現）肥飼料安全検査部

[2] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター

[3] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

試料 a, b については 5 g, 試料 c, d については 1 g を正確(0.1 mg のけたまで)にはかりとり, トールビーカー 200 mL に入れ, 水酸化カリウム･エタノール溶液約 50 mL を加え, 時計皿で覆い, ホットプレートで 5 分間煮沸溶解した. 放冷後, 全量フラスコ 250 mL に移し, 標線まで水を加えた後にろ紙(3 種)でろ過し, 試料溶液とした. 試料 e, f については硫酸を原料とする液状試料のため, 上記の操作は行わなかった.

試料 e, f については 5 g を正確(0.1 mg のけたまで)にはかりとり, トールビーカー300 mL にとり, 水約 50 mL 及び過酸化水素約 5 mL を加え, 80～90 ℃の水浴上でときどきかき混ぜながら約 1 時間加熱した. また, 試料 a, b については試料溶液 50 mL, 試料 c, d については試料溶液 15 mL をトールビーカー300 mL にとり, 同様の操作を行った.

放冷後, フェノールフタレイン溶液数滴を加え(または pH 計を用いて), 塩酸(2+1)で中和した. 更に塩酸(2+1)約 1 mL を過剰に加え, 水を加えて約 100 mL とし, ホットプレートで約 5 分間煮沸した. 直ちに, 熱塩化バリウム溶液(100 g/L)約 6 mL を撹拌しながら加え, 少時放置後, 熱塩化バリウム溶液(100 g/L)を数滴加え新たな沈殿が生じないことを確認したうえで, 熱塩化バリウム溶液(100 g/L)約 2 mL を撹拌しながら過剰に加えた. その後, 80 ℃～90 ℃の水浴上で約 2 時間加熱した. 硫酸バリウムの沈殿結晶を熟成させるため, 加温を止めた水浴上で 4 時間以上放置した. ろ紙(5 種 C)でろ過し, トールビーカー300 mL を水で洗浄して沈殿をことごとくろ紙上に移した. 洗浄は洗液約 20 mL に硝酸(1+2)約 5 mL 及び硝酸銀溶液約 1 mL を加えたときに白濁しなくなるまで行った.

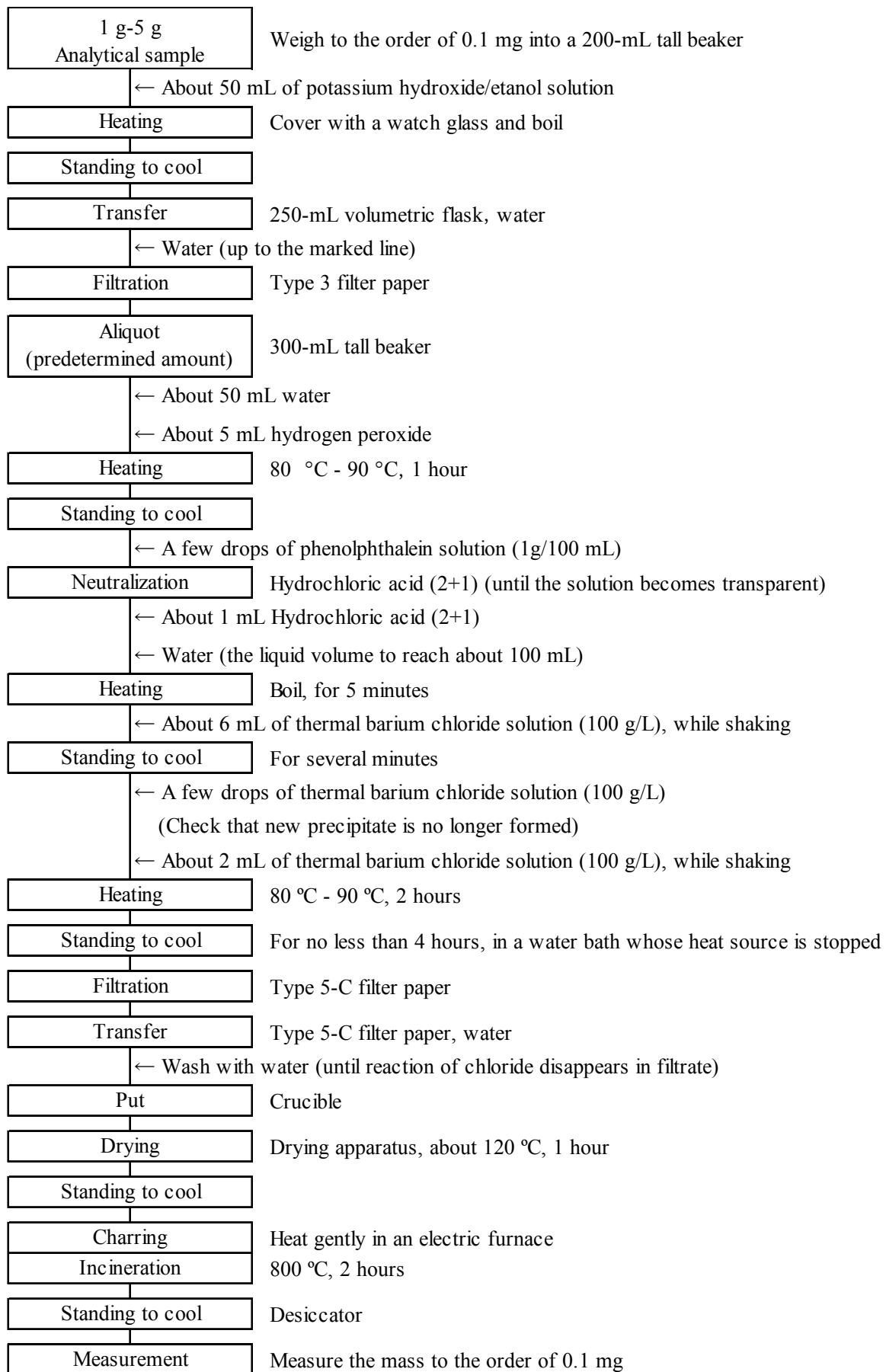
予め恒量したるつぼに沈殿及びろ紙を入れ、乾燥器で乾燥(約 120 ℃, 1 時間)後, 電気炉で加熱(約 800 ℃, 2 時間)した. 加熱後, るつぼをデシケーター中に移して放冷し, るつぼの質量を 0.1 mg のけたまで測定した.

次の式によって分析試料中の硫黄分全量(質量分率%)を算出した.

$$\text{硫黄分全量(質量分率\%)} = ((W_x - W_B) \times 0.3430) / (W_s \times V_2 / V_1) \times 100$$
$$= (W_x - W_B) / (W_s \times V_2 / V_1) \times 34.3$$

W_x:灰化後の分析試料とるつぼの質量(g)
W_B:るつぼの質量(g)
W_s:分析試料の質量(g)
V_1:試料溶液の定容量(mL)
V_2:試料溶液の分取量(mL)

4) 共同試験用試料の均質性確認

IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル[7]の均質性試験に従い, 各系列の共同試験用試料からそれぞれ 10 試料を抜き取り, 各試料につき 2 点併行で, 透過光測定法[6]又は X 線回折法[8]で試験を実施した.

Scheme 1 Flow sheet for total sulfur content in fertilizers

5）共同試験

試験に参加した 10 試験室において，送付した 12 試料について 2）及び 3）に従って試験を実施した．

（1）　参加試験室

・ エムシー･ファーティコム株式会社 いわき工場
・ 太平物産株式会社 土壌･肥料検定センター
・ デンカアヅミン株式会社
・ 公益財団法人日本肥糧検定協会 本部
・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター　神戸センター
・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター 札幌センター
・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター 仙台センター
・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター 名古屋センター
・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター 福岡センター
・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター 本部

（50 音順）

Table 1 Homogeneity test results

Sample	No. of sample[1)]	Mean[2)] (%)[3)]	s_r[4)] (%)[3)]	RSD_r[5)] (%)	s_{bb}[6)] (%)[3)]	s_{b+r}[7)] (%)[3)]	RSD_{b+r}[8)] (%)	F Value[9)10)]
a [11)]	10 (0)	8.62	0.19	2.3	0.12	0.23	2.6	1.72
b [11)]	10 (0)	12.51	0.16	1.3	0.06	0.17	1.4	1.24
c [12)]	10 (0)	247.8	4.46	1.8	1.0	4.6	1.8	1.11
d [12)]	10 (0)	245.6	5.28	2.1	0.5	5.3	2.2	1.02
e [11)]	10 (0)	1.38	0.02	1.1	0.01	0.02	1.4	2.33
f [11)]	10 (0)	2.85	0.04	1.5	0	0.04	1.5	0.29

1) The number of samples used for analysis; ( ): The number of outliers
2) Grand mean value (n=The number of samples used for analysis×The number of repetition times (2))
3) Mass fraction
4) Standard deviation of repeatability
5) Relative standard deviation of repeatability
6) Standard deviation of sample-to-sample
7) Standard devitation of sample-to-sample include repeatability　$s_{\mathrm{b+r}} = \sqrt{s_{\mathrm{bb}}{}^2 + s_{\mathrm{r}}{}^2}$
8) Relative standard deviation of sample-to-sample include repeatability
9) F value calculated based on analysis of variance (ANOVA)
10) F critical value: F(9,10:0.05)=3.02
11) Test by transmitted light analysis
12) Test by X-ray diffractometric analysis

3. 結果および考察

1） 共同試験用試料の均質性確認

均質性試験の成績及び繰返し 2 回×10 試料の一元配置による分散分析から得られた統計量を Table 1 に示した．いずれの試料においても，F 値が $F(9,\ 10;0.05)$ を下回ったことから，有意水準 5 %において試料間に有意な差は認められず[9)]，すべての分析試料が共同試験に用いることができる均質性を有していることを確認した．

2） 共同試験成績及び外れ値検定

各試験室から報告された共同試験成績を Table 2 に示した．各系列の分析試料の試験結果を IUPAC の共同試験プロトコル[9)]及び AOAC の共同試験ガイドライン[10)]に従って統計処理した．試験成績の外れ値を検出するために Cochran の検定及び Grubbs の検定を実施したところ，10 試験室の試験成績のうち粉状試料 c 及び液状試料 f で 1 試験室，粉状試料 a，d 及び液状試料 e で 2 試験室の試験成績が外れ値と判定された．

Table 2 Collaborative study results (Mass fraction, %)

Lab ID	Solid sample a		Solid sample b		Solid sample c	
A	8.17	8.25	12.54	12.53	245.1	246.4
B	9.07[2)]	9.13[2)]	13.24	13.52	253.0	252.7
C	9.13[2)]	9.20[2)]	13.29	13.20	254.5	253.7
D	8.31	8.22	12.38	12.48	246.1[1)]	241.4[1)]
E	8.05	8.21	12.27	12.20	247.8	246.4
F	8.32	8.35	12.51	12.62	247.0	246.0
G	8.40	8.40	12.57	12.55	244.5	243.8
H	8.35	8.48	12.56	12.59	246.4	245.8
I	8.35	8.41	12.70	12.68	245.8	245.8
J	8.42	8.43	12.78	12.89	246.5	246.2
Lab ID	**Solid sample d**		**Liquid sample e**		**Liquid sample f**	
A	246.1	245.8	1.40	1.39	2.87	2.86
B	252.1[2)]	253.0[2)]	1.46[2)]	1.49[2)]	2.92	2.91
C	254.5[2)]	254.0[2)]	1.50[2)]	1.50[2)]	2.94	2.94
D	245.7	245.2	1.40	1.40	2.86	2.86
E	246.7	245.9	1.41	1.41	2.88	2.88
F	246.7	245.4	1.40	1.41	2.88	2.88
G	244.0	244.2	1.41	1.41	2.88	2.88
H	245.5	246.1	1.42	1.41	2.89	2.89
I	245.6	245.9	1.41	1.42	2.88	2.88
J	245.9	245.6	1.42	1.41	2.89[1)]	2.93[1)]

1） Outlier By Cochran

2） Outlier By Grubbs

3） 併行精度及び室間再現精度

各試験室から報告された成績は三酸化硫黄（SO_3）としての質量分率表記であるが，質量分率が 100 %を超える成績をIUPACの共同試験プロトコル[9]及びAOACの共同試験ガイドライン[10]に従って評価するのは不適当と判断し，硫黄（S）として評価するため，試験成績を係数 2.4969 で除した値で統計処理を行った．

外れ値を除外した試験成績より算出した平均値，併行標準偏差（s_r）及び併行相対標準偏差（RSD_r）並びに室間再現標準偏差（s_R），室間再現相対標準偏差（RSD_R）及び HorRat 値（HorRat）を Table 3 に示した．室間再現 HorRat 値は食品分析分野の化学分析方法の性能評価指標の一つとして用いられ，現在のところ肥料に使用している事例は少ないが，参考として記載した．HorRat は RSD_R/$PRSD_R$ により求められる．なお，$PRSD_R$ は平均定量値から Horwitz の修正式[11]により求めた．外れ値を除外した試験成績の硫黄（S）としての総平均値は質量分率 0.564 %～99.17 %であり，その s_r 及び s_R は質量分率 0.001 %～0.24 %及び 0.003 %～1.39 %であり，RSD_r 及び RSD_R は 0.1 %～0.7 %及び 0.3 %～2.8 %であった．また，HorRat は 0.14～1.39 であり，いずれの試料も HorRat は 2 以下となり，コーデックス委員会の分析精度の受け入れ基準を満たしていた[12]．

Table 3 Statistical analysis of collaborative study results (Analysis as sulfur)

Sample	No. of labs p (q)[1]	Mean[2] (%)[9]	Mean[3] (%)[9]	s_r[4] (%)[9]	RSD_r[5] (%)	s_R[6] (%)[9]	RSD_R[7] (%)	HorRat[8]
a	8 (2)	8.32	3.33	0.02	0.7	0.05	1.4	0.42
b	10 (0)	12.71	5.09	0.03	0.6	0.14	2.8	0.91
c	9 (1)	247.6	99.17	0.24	0.2	1.39	1.4	1.39
d	8 (2)	245.6	98.37	0.18	0.2	0.30	0.3	0.30
e	8 (2)	1.41	0.564	0.002	0.4	0.003	0.6	0.14
f	9 (1)	2.89	1.16	0.001	0.1	0.01	0.9	0.22

1) Number of laboratories, where p=number of laboratories retained after outlier removed and (q)=number of outliers.
2) Grand mean value as sulfur trioxide
(n=The number of participating testing laboratoried (p)×The number of times of repetition (2))
3) Grand mean value as sulfur (=2.4969× Grand mean value as sulfur trioxide)
4) Standard deviation of repeatability
5) Relative standard deviation of repeatability
6) Standard deviation of reproducibility
7) Relative standard deviation of reproducibility
8) Horwitz ratio of reproducibility
9) Mass fraction

4. まとめ

10 試験室において 6 種類（12 点）の試料を用いて硫黄分全量測定の共同試験を実施し，塩化バリウム重量法の評価を行った．その結果，室間再現精度（相対標準偏差）は 0.3 %～2.8 %であった．このことから，試験室間の比較による本試験法の室間再現精度は満足する成績であり，本試験法は，肥料中の硫黄分全量測定に用いることが出来る十分な性能を有していることが確認できた．

謝　辞

共同試験にご協力頂きました，エムシー･ファーティコム株式会社いわき工場，太平物産株式会社土壌･肥料検定センター，デンカアヅミン株式会社及び公益財団法人日本肥糧検定協会本部の各位に謝意を表します．

文　献

1） 農林水産省：肥料取締法第十七条第一項第三号の規定に基づき，肥料取締法第四条第一項第三号に掲げる普通肥料の保証票にその含有量を記載する主要な成分を定める件，平成 12 年 1 月 27 日，農林水産省告示第 96 号，最終改正　平成 13 年 3 月 15 日，農林水産省告示第 337 号 (2001)

2）関東化学株式会社編：試薬に学ぶ化学分析技術　現場で役立つ基礎技術と知識，p.112～120 (2009)

3） JIS K 8088，硫黄（試薬） (2010)

4） JIS M 8217，鉄鉱石－硫黄定量方法 (1994)

5） 杉村靖：硫黄及び硫黄化合物を含む肥料中の硫黄分全量測定　－重量法の適用－，肥料研究報告，**4**，9～15，(2011)

6） 独立行政法人農林水産消費安全技術センター（FAMIC）：肥料等試験法 ＜http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html＞

7） Thompson, M., R.Ellison, S.,Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemical Laboratories, Pure & Appl. Chem., **78** (1), 145~196 (2006)

8） JIS K 0131，X 線回折分析通則 (1996)

9） Horwitz, W.: Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, Pure & Appl. Chem., **67** (2), 331~343 (1995)

10） AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix D: Guideline for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg (2005)

11） Thompson, M.: Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing, Analyst, **125**, 385~386 (2000)

12） Codex Alimentarius:CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION PROCEDURAL MANUAL Twentieth edition, p66 (2011)

Testing Method of the Total Amount of Sulfur Content(as Sulfur Trioxide): A Collaborative Study

Shin ABE[1], Chika SUZUKI[2] and Yuji SHIRAI[3]

[1] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center
(Now) Fertilizer and Feed Inspection Department
[2] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center
[3] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

A collaborative study was conducted to evaluate the applicability of the method validation of gravimetric analysis for determination of sulfur content in sulfur and its compounds as fertilizer. Sulfur in fertilizer was dissolved in potassium hydroxide ethanol solution, and oxidized to sulfate ion by adding hydrogen peroxide. The precipitation of barium sulfate was generated by adding barium chloride solution to the sample solution. The precipitation of barium sulfate was separated from the solution by filtration, washed with water, and ignited at 800 °C. The sulfur content (as sulfur trioxide) was calculated from the ignition weight of barium sulfate. Six samples (fertilizers containing sulfur and a sulfuric compound and sample which diluted sulfuric acid) were sent to 10 collaborator. These samples were analyzed as blind duplicates. After removing the outlying date using Cochran and Grubbs outlier test, mean values (as sulfur trioxide) were in the range of 1.41 to 247.6 % (mass fraction), and the repeatability relative standard deviation (RSD_r) and the reproducibility relative standard deviation (RSD_R) ranged from 0.1 to 0.7 %, 0.3 to 2.8 %, respectively. These results indicated that this method was validated for determination of sulfur content in the fertilizer.

Key words fertilizer, sulfur, sulfuric acid, gravimetric analysis

(Research Report of Fertilizer, **7**, 28~35, 2014)

5　シリカゲル肥料を含む肥料中の可溶性けい酸測定

－共同試験成績－

川口伸司[1]，清水昭[2]

キーワード　可溶性けい酸，ふっ化カリウム法，シリカゲル肥料，共同試験

1. はじめに

シリカゲル肥料は平成15年の普通肥料の公定規格[1)]の改正により，化成肥料及び配合肥料の定義として「けい酸質肥料（シリカゲル肥料に限る）」が追加され，含有すべき主成分の最小量（%）が「可溶性けい酸を保証するものにあっては可溶性けい酸 10.0」として設定された．また，農林水産省告示[2)]には，「可溶性けい酸とは，シリカゲルに由来するものにあっては 2 分の 1 モル毎リットルの水酸化ナトリウムに溶けるけい酸を，その他の原料に由来するものにあっては 2 分の 1 モル毎リットルの塩酸に溶けるけい酸をいう．」と規定された．

「シリカゲル肥料中の可溶性けい酸の測定」は，水酸化ナトリウム溶液（20 g/L）で抽出した後ふっ化カリウム法で測定する方法が肥料等試験法[3)]に収載されている．「シリカゲル肥料を含む肥料中の可溶性けい酸の測定」は，水酸化ナトリウム溶液（20 g/L）で抽出する前に塩酸（1+23）を加えて酸性で抽出することで抽出効率を改善し[4)]，共同試験[5)]を実施したところ，室間再現精度が大きく，満足する成績が得られなかった．

このことから，共同試験参加試験室への聞き取り調査結果等をふまえ，抽出操作を改良し，その試験法について単一試験室における妥当性を確認した[6)]．

今回，この試験法について IUPAC の共同試験プロトコル[7)]を参考に共同試験を実施し，試験室間の再現精度を調査したので，その概要を報告する．

2. 材料及び方法

1） 共同試験用試料の調製

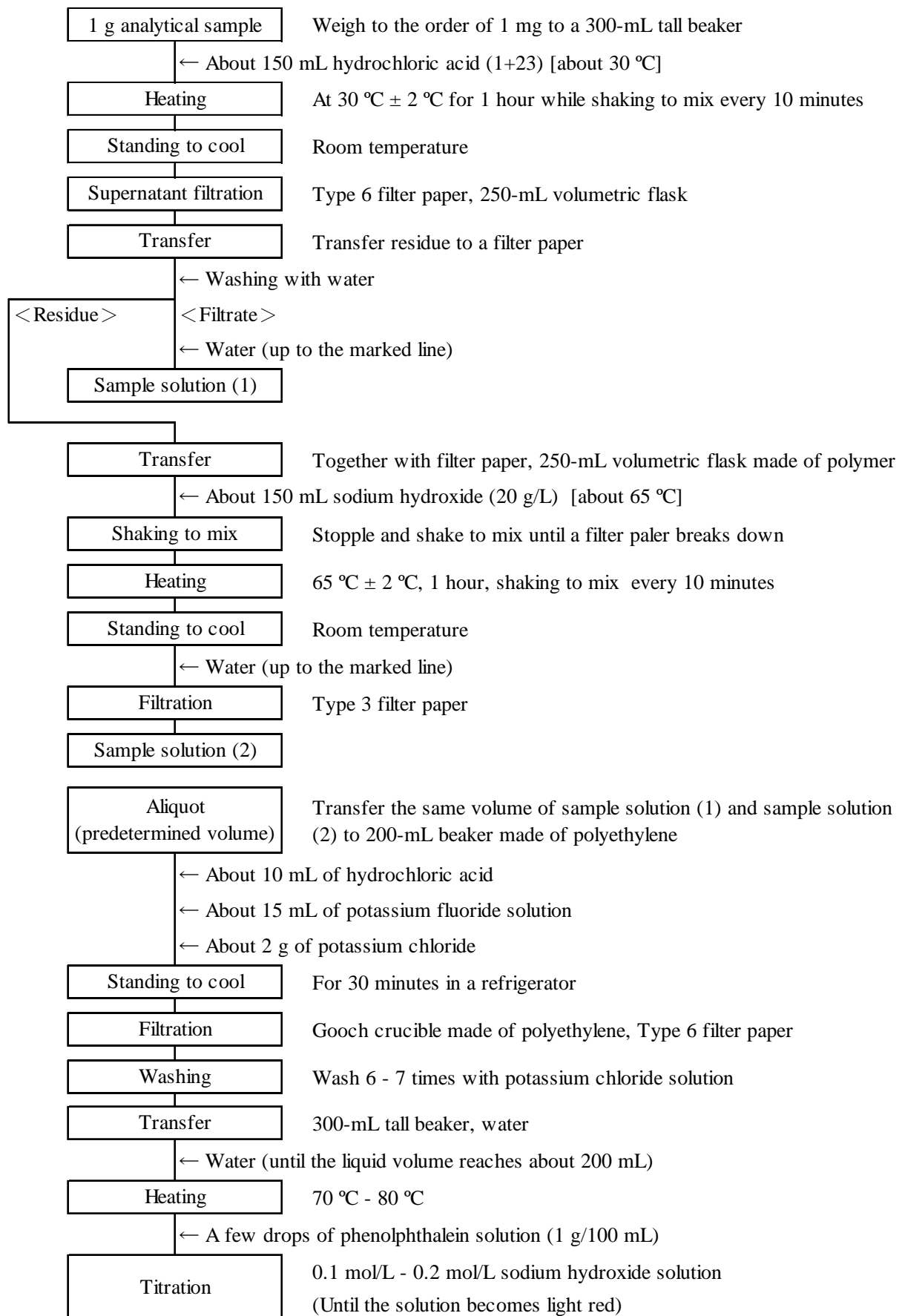
シリカゲル肥料を含む，混合りん酸肥料 2 点，化成肥料 3 点各 2～3 kg を試験品として採取し， 超遠心粉砕機（Retsch ZM1000）で目開き 500 µm のふるいを全通するまで粉砕して共同試験用試料を調製した．

共同試験用試料 1.5 g をビニール袋に入れ密封した．一対のブラインド試料を提供するため，共同試験用試料の袋に番号のラベルを付け，各 10 点を参加試験室に送付した．

2） 装置及び器具

各試験室で準備したものを使用した．

[1] （独）農林水産消費安全技術センター名古屋センター

[2] （独）農林水産消費安全技術センター名古屋センター （現）肥飼料安全検査部

Scheme 1　Flow sheet for soluble silicic acid in fertilizers containing silica gel fertilizer

3） シリカゲル肥料を含む肥料中の可溶性けい酸測定

分析試料 1.00 g をはかりとり，300 mL のトールビーカーに入れ，約 30 ℃に加温した塩酸（1+23）約 150 mL を加え，30 ℃±2 ℃の水浴中で 10 分ごとにガラス棒でかき混ぜながら 60 分間加温した後，全量フラスコ 250 mL を受器とし，ろ紙 6 種でろ過する．容器及びろ紙上の不溶解物を水で洗浄してから標線まで水を加えた（以下試料溶液（1）とする）．ろ紙上の不溶解物はろ紙とともに，ポリエチレン製全量フラスコ 250 mL に入れて約 65 ℃ に加温した水酸化ナトリウム溶液（20 g/L）約 150 mL を加え，65 ℃±2 ℃の水浴中で 10 分ごとに振り混ぜながら，60 分間加温する．室温まで放冷した後，標線まで水を加え，ポリエチレン製容器を受器とし，ポリエチレン製ロートを用いろ紙 3 種でろ過した（以下試料溶液（2）とする）．

試料溶液（1）25 mL 及び試料溶液（2）の 25 mL を同一のポリエチレン製ビーカー200 mL にとり，塩酸約 10 mL，ふっ化カリウム溶液約 15 mL 及び塩化カリウム約 2 g を加えてポリエチレン製の撹拌棒でかき混ぜて溶かし，10 ℃以下の冷蔵庫で約 30 分間冷却した後，ポリエチレン製グーチるつぼにろ紙 6 種及びろ紙くずを敷いて（沈殿の流出を抑えるため，ろ紙パルプを詰めてもよい．）吸引ろ過し，塩化カリウム溶液で 6～7 回洗浄した．ろ紙上の沈殿物はろ紙とともに水でトールビーカー300 mL に移して水で約 200 mL とし，70～80 ℃に加熱した後直ちにフェノールフタレイン溶液（1g/100 mL）を数滴加え，標準水酸化ナトリウム溶液（0.1～0.2 mol/L）で溶液の色がうすい紅色になるまで滴定し，可溶性けい酸の量を算出した（Scheme 1）．

4） 共同試験用試料の均質性確認

IUPAC 技能試験のハーモナイズドプロトコル[8)]の均質性確認試験の実施手順に従い，各系列の共同試験用試料からそれぞれ 10 試料を抜き取り，各試料につき 2 点併行で 3）に従って分析を実施した．

5） 共同試験

試験に参加した試験室は以下のとおりであり，それぞれの試験室において送付した 10 試料について 3）に従って分析を実施した．

- 日東エフシー株式会社名古屋工場
- 公益財団法人日本肥糧検定協会本部
- 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター
- 独立行政法人農林水産消費安全技術センター札幌センター
- 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター
- 独立行政法人農林水産消費安全技術センター名古屋センター
- 独立行政法人農林水産消費安全技術センター福岡センター
- 独立行政法人農林水産消費安全技術センター本部

（50 音順）

3． 結果及び考察

1） 共同試験用試料の均質性確認

均質性試験の成績及び繰返し 2 回×各 10 試料の一元配置による分散分析から得られた統計量を Table 1 に示した．いずれの試料においても，F 値が F（9，10；0.05）を下回ったことから，有意水準 5 %において試料間に有意な差は認められず，すべての分析試料が共同試験に用いることができる均質性を有していることを確認した．

Table 1 Homogeneity test results of for soluble silicic acid

Sample	No. of sample[1)]	Mean[2)] (%)[3)]	s_r[4)] (%)[3)]	RSD_r[5)] (%)	s_{bb}[6)] (%)[3)]	s_{b+r}[7)] (%)[3)]	RSD_{b+r}[8)] (%)	F Value[9)10)]
Phosphate fertilizer mixture 1	10 (0)	24.97	0.15	0.6	0.11	0.18	0.7	1.97
Phosphate fertilizer mixture 2	10 (0)	34.42	0.26	0.7	0.18	0.31	0.9	2.02
Compound fertilizer 1	10 (0)	29.80	0.17	0.6	0	0.17	0.6	0.84
Compound fertilizer 2	10 (0)	33.26	0.31	0.9	0	0.31	0.9	0.85
Compound fertilizer 3	10 (0)	15.44	0.12	0.8	0.11	0.16	1.0	2.68

1) The number of samples used for analysis; ( ): The number of outliers

2) Grand mean value (n=The number of samples used for analysis×The number of repetition (2))

3) Mass fraction

4) Standard deviation of repeatability

5) Relative standard deviation of repeatability

6) Standard deviation of sample-to-sample

7) Standard devitation of sample-to-sample include repeatability $s_{b+r} = \sqrt{s_{bb}{}^2 + s_r{}^2}$

8) Relative standard deviation of sample-to-sample include repeatability

9) F value calculated based on analysis of variance (ANOVA)

10) F critical value: F(9,10:0.05)=3.02

2） 共同試験成績及び外れ値検定

各試験室から報告された共同試験成績をTable 2に示した．試験成績の外れ値を検出するためにCochranの検定及びGrubbsの検定を実施したところ，1試験室の混合りん酸肥料2の試験成績が外れ値と判定されたが，参加試験室が8試験室のため，外れ値も含めて統計処理した．

Table 2 Individual result of for soluble silicic acid (mass %)

Lab ID[1)]	Phosphate fertilizer mixture 1		Phosphate fertilizer mixture 2		Compound fertilizer 1		Compound fertilizer 2		Compound fertilizer 3	
A	25.18	24.93	33.69	33.66	29.80	29.42	32.66	32.42	15.66	15.46
B	25.25	25.14	34.57	34.53	30.08	30.14	33.55	33.72	15.83	15.73
C	25.08	24.99	34.32	34.26	29.98	30.04	33.19	33.36	15.63	15.69
D	25.03	24.72	34.86	34.79	30.99	30.89	33.78	33.92	15.80	15.93
E	24.58	24.95	34.27	34.28	29.98	29.85	32.85	32.74	15.74	15.39
F	24.36	24.49	34.49	34.22	30.08	29.89	33.31	33.41	15.92	16.01
G	25.12	25.09	34.49 [2)]	35.39 [2)]	30.47	30.46	33.78	33.50	15.59	15.61
H	25.37	25.60	34.86	35.26	31.51	31.24	33.55	33.76	16.11	16.03

1) Laboratory identification

2) Outlier of Cochran

3） 併行精度及び室間再現精度

試験成績より算出した平均値，併行標準偏差（s_r）及び相対標準偏差（RSD_r）並びに室間再現標準偏差（s_R），相対標準偏差（RSD_R）及び HorRat 値を Table 3 に示した．試験成績の平均値は質量分率 15.76 %～34.50 %，s_r 及び s_R は質量分率 0.11 %～0.26 %及び質量分率 0.21 %～0.60 %，RSD_r 及び RSD_R は 0.4 %～0.7 %及び 1.3 %～2.0 %，HorRat は 0.53～1.09 であった．なお，混合りん酸肥料 2 の成績は外れ値を除外せずに算出した s_R，RSD_R 及び HorRat 値であるが、これらを含めて満足できる成績であった[9]．

HorRat 値は食品分析分野の化学分析方法の精度の評価をするために用いられており，現在のところ肥料に使用している事例が少ないが参考に記載した．HorRat 値は RSD_R/RSD_R(P)により求められる．なお，$PRSD_R$ は平均定量値から Horwitz の修正式[9]により求めた．

Table 3 Statistical analysis of collaborative study results

Sample	No. of labs p[1]	Mean[2] (%)[3]	s_r[4] (%)[3]	RSD_r[5] (%)	s_R[6] (%)[3]	RSD_R[7] (%)	HorRat[8]
Phosphate fertilizer mixture 1	8	24.99	0.16	0.6	0.33	1.3	0.67
Phosphate fertilizer mixture 2	8	34.50	0.26	0.7	0.48	1.4	0.82
Compound fertilizer 1	8	30.30	0.13	0.4	0.60	2.0	1.09
Compound fertilizer 2	8	33.34	0.13	0.4	0.47	1.4	0.81
Compound fertilizer 3	8	15.76	0.11	0.7	0.21	1.3	0.53

1) Number of laboratories, where p =number of laboratories

2) Grand mean value

(n =The number of participating testing laboratories (p)×The number of repetition (2))

3) Mass fraction

4) Standard deviation of repeatability

5) Relative standard deviation of repeatability

6) Standard deviation of reproducibility

7) Relative standard deviation of reproducibility

8) Horwitz ratio of reproducibility

4. まとめ

8 試験室においてシリカゲル肥料を含む肥料，混合りん酸肥料 2 試料，化成肥料 3 試料（計 10 点）を用いて可溶性けい酸の共同試験を実施し，試験法の評価を行った．その結果，室間再現精度（相対標準偏差）は 1.3 %～2.0 %であり，満足する成績であった．

このことから，本試験法は，シリカゲル肥料を含む肥料中の可溶性けい酸測定に用いることが出来る十分な性能を有していることが確認できた．

謝　辞

共同試験にご協力頂きました，日東エフシー株式会社名古屋工場及び公益財団法人日本肥糧検定協会本部の各位に謝意を表します．

文　献

1） 農林水産省告示：肥料取締法に基づき普通肥料の公定規格を定める等の件，昭和 61 年 2 月 22 日，農林水産省告示第 284 号，最終改正平成 26 年 9 月 1 日，農林省告示第 1146 号 (2014)

2） 農林水産省告示：肥料取締法施行令第一条の二の規定に基づき農林水産大臣の指定する有効石灰等を指定する件，昭和 59 年 3 月 16 日，農林水産省告示第 695 号，最終改正平成 11 年 5 月 13 日，農林水産省告示第 704 号 (1999)

3） 独立行政法人農林水産消費安全技術センター（FAMIC）：肥料等試験法 <http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html>

4） 清水昭，伊藤潤，阿部進：シリカゲル肥料を含む肥料中の可溶性けい酸測定　－アルカリ抽出法の改良－，肥料研究報告，**4**，1～8 (2011)

5） 清水　昭，阿部　進，伊藤　潤：シリカゲル肥料及びシリカゲル肥料を含む肥料中の可溶性けい酸測定　－共同試験成績－，肥料研究報告，**5**，31～40 (2012)

6） 清水昭：シリカゲル肥料を含む肥料中の可溶性けい酸測定　－ふっ化カリウム法の適用－，肥料研究報告，**6**，1～8 (2013)

7） Horwitz, W.: Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies., Pure & Appl. Chem., **67** (2), 331～343 (1995)

8） Thompson, M., R.Ellison, S., Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemical Laboratories, pure & Appl. Chem., **78** (1), 145～196 (2006)

9） Thompson, M.: Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing, Analyst, **125**, 385～386 (2000)

Determination of Soluble Silicic Acid in Fertilizers Containing Silica Gel Fertilizer by Potassium Fluoride Method: A Collaborative Study

Shinji KAWAGUCHI[1] and Akira SHIMIZU[2]

[1] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Nagoya Regional Center
[2] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Nagoya Regional Center
(Now) Fertilizer and Feed Inspection Department

A collaborative study was conducted to evaluate the applicability of the method of potassium fluoride for determination of soluble silicic acid in fertilizers containing silica gel fertilizer. Silicic acid in fertilizer was extracted with hydrochloric acid (1+23) and sodium hydroxide solution (20 g/L) successively, and then each extract was mixed. The silicic acid in the mixture was determined by potassium fluoride method. Five samples of fertilizers containing silica gel fertilizer, respectively, were sent to 8 collaborators. These samples were analyzed as blind duplicates. Mean values reported from 15.76 % to 34.50 %, the relative standard deviation (RSD_r) for repeatability ranged from 0.4 % to 0.7 %, the relative standard deviation (RSD_R) for reproducibility ranged from 1.3 % to 2.0 %. These results indicated that this method has an acceptable precision for determination of soluble silicic acid in fertilizers containing silica gel fertilizer.

Key words soluble silicic acid, potassium fluoride method, silica gel fertilizer, collaborative study

(Research Report of Fertilizer, **7**, 36~42, 2014)

6　カドミウムの土壌蓄積及び作物吸収における汚泥肥料連用の影響（続報）

廣井利明[1], 五十嵐総一[2], 惠智正宏[3], 橋本良美[1], 阿部文浩[4]

キーワード　汚泥肥料, 連用試験, カドミウム

1. はじめに

肥料の公定規格[1)]では汚泥肥料中の含有を許されるカドミウムの最大量（以下,「含有許容値」という．）は 0.0005 %と定められており, 汚泥肥料はこの範囲内において流通, 施用されている. 一方, 汚泥肥料の施用により土壌に負荷された重金属が蓄積し, 更に長期に施用すると土壌の保持力を超えて農作物へ移行し, 人畜に有害な農作物が生産されることが懸念されている. このことから, 肥料の有効性及び安全の確保に必要な課題に関する調査研究として, 汚泥肥料の連用施用試験を実施している.

2009 年夏作から 2012 年夏作にかけては, 汚泥肥料を施用した区及び施用していない区の 2 試験区を設け, ニンジン, ホウレンソウ, ホウレンソウ, チンゲンサイ, カブ, ホウレンソウ, ニンジンの順で栽培し, 土壌中のカドミウム濃度の変化及び作物体へのカドミウム吸収量を確認した. その結果は既に肥料研究報告第 5 号[2)]及び 6 号[3)]で報告した. 2012 年冬作及び 2013 年夏作においてはそれぞれホウレンソウ, ニンジンを用いて試験を実施したのでその結果を報告する.

2. 材料及び方法

1） 2012 年冬作の連用試験（2012 年 10 月 26 日～2013 年 3 月 6 日）

（1） 試験圃場及び供試土壌

本試験は当センター岩槻圃場（埼玉県さいたま市）で実施した. 試験は, 汚泥肥料の施用履歴がある土壌（汚泥肥料施用区）と施用履歴がない土壌（標準区）を供試土壌とし, 2 試験区 2 反復とした. 施肥の前歴として汚泥肥料施用区は平成 16 年及び 18 年に汚泥肥料（し尿汚泥肥料及び下水汚泥肥料）を施用した. この時の汚泥肥料由来のカドミウム負荷量は, 試験区（4 m^2）当たり約 100 mg であった. 土壌の種類, 土性, 及び前作跡地の pH, EC, 有効態リン酸, 陽イオン交換容量, 全窒素, 全炭素及び 0.1 mol/L 塩酸可溶カドミウム（以下, 0.1 mol/L HCl-Cd）を Table 1 に示す.

（2） 供試肥料等

施用する汚泥肥料は高分子凝集剤を用いて脱水したし尿汚泥を乾燥し, 生産された市販のし尿汚泥肥料を使用した. し尿汚泥肥料は, カドミウム含有量（乾物値）が肥料公定規格の含有許容値付近(約 5 mg/kg)のものを選定した. 補正肥料として特級試薬の硫酸アンモニウム, リン酸一アンモニウム及び塩化カリウムを使用した.

[1] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部
[2] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部（現）福岡センター
[3] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部（現）神戸センター
[4] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部（現）仙台センター

汚泥肥料及び補正肥料の各成分の分析は肥料等試験法[4]によった．なお，汚泥肥料中の 0.1 mol/L HCl‑Cd 濃度は，汚泥肥料 1 g を 0.1 mol/L 塩酸 50 mL で 1 時間振とうして抽出したカドミウムを原子吸光光度法により測定した．汚泥肥料中の 1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液（pH7.0）可溶カドミウム（以下，1 mol/L 酢安（pH7.0）‑Cd）濃度は，汚泥肥料 1 g を 1 mol /L 酢酸アンモニウム溶液（pH7.0）50 mL で 1 時間振とうして抽出したカドミウムを ICP 質量分析法により測定した．汚泥肥料の分析結果は Table 2 に，補正肥料の成分量は Table 3 に示した．

Table 1 Characteristics of soil used in this study

	Unit	year	AP [1]-1	AP [1]-2	SP [2]-1	SP [2]-2
pH (H_2O) [3]		2009[7]	6.1	6.1	6.2	6.2
		2012[8]	6.2	6.3	6.2	6.3
EC [4]	mS/m	2009	10.0	10.3	14.0	11.6
		2012	16.6	16.9	15.6	13.4
Total nitrogen [5]	% [6]	2012	0.42	0.43	0.38	0.38
Total carbon [5]	% [6]	2012	5.8	5.8	5.4	5.5
Phosphate absorption coefficient [5]	mg/100g dry soil	2012	2370	2380	2360	2420
Available phosphate [5]	mg/100g dry soil	2009	5.8	6.1	7.7	6.9
		2012	4.9	5.1	6.2	6.0
CEC [5]	c molc/kg	2012	35.8	36.3	36.9	37.3
0.1 mol /L HCl-Cd [5]	mg/kg	2009	0.18	0.19	0.18	0.21
		2012	0.18	0.19	0.14	0.15
Kind of soil			Andosol		Andosol	
Soil texture			Light clay		Light clay	

1) Sludge-fertilizer-application plot
2) Standard plot
3) Soil pH determined on 1 : 5 (soil : water) suspensions with a glass electrode, n= 1
4) Soil electrical conductivity determined on 1:5 (soil:water) suspensions with an electricalconductivity meter, *n* = 1
5) Content in the dry matter, average (*n* = 2)
6) Mass fraction
7) The year when the study was designed to evaluate the effects of sludge fertilizer aplications on soil intended for long-term use
8) The year when this study was conducted.

Table 2　Properties of sludge fertilizer

Properties	Unit	Content	Property	Unit	Content
Total nitrogen	%[1]	3.3	Total copper	mg /kg	546
Total phosphorus[2]	%[1]	5.2	Total zinc	mg /kg	1,760
Total potassium[3]	%[1]	0.4	Carbon to nitrogen ratio	-	7.1
Total calcium[4]	%[1]	2.1	Total cadmium	mg /kg	3.6
Organic carbon	%[1]	23.6	Acid-solubility-cadmium[5]	mg /kg	3.2
Moisture	%[1]	26.1	Exchangeable-cadmium[6]	mg /kg	0.32

1) Mass fraction
2) Content as P_2O_5
3) Content as K_2O
4) Content as CaO
5) Content of cadmium dissolved with 0.1 mol/L hydrochloric acid
6) Content of cadmium dissolved with pH 7.0, 1 mol/L ammonium acetate solution

Table 3　Properties of the reagent

Property	Unit	Ammonium sulfate	Ammonium dihydrogenphosphate	Potassium chloride
Total nitrogen	%[1]	21.1	12.0	-
Total phosphorus[2]	%[1]	-	61.5	-
Total potassium[3]	%[1]	-	-	63.1

1) Mass fraction
2) Content as P_2O_5
3) Content as K_2O

(3)　試験区の構成

汚泥肥料施用区及び標準区は，1 試験区の面積を 4 m^2(縦 2 m×横 2 m)とし，各試験区 2 反復の計 4 試験区を Fig.1 のとおり配置した．施肥量は埼玉県のホウレンソウ施肥基準[5]を基に施肥設計した．

汚泥肥料の施用量は，農林水産省のアンケート調査結果では 1 作当たり 2 t/10a 程度施用している農家も存在するが，最も一般的な施用量は，500 kg/10a 程度であった[6]．自治体によっては，汚泥肥料中の重金属の農地への蓄積を抑制するため施用上限量の目安を示しており，年間 500～1,000 kg/10a としている事例がある[7～9]．また，高分子凝集剤を使用した汚泥肥料を連用した場合，土壌 pH が低下する[10]ことが知られており，連用施用による土壌理化学性への影響等を考慮し，1 作当たりの施用量は 500 kg/10a(現物)とした．窒素肥効率は前作までの標準区との生育量の差から 30 %として計算し，不足分を補正肥料で施用した．りん酸及び加里についても不足分は補正肥料を用いて調整した．標準区については，補正肥料を用いて汚泥肥料施用区と同様の成分量になるよう施用した(Table 4 参照)．なお，前作の跡地土壌を分析したところ，各試験区の有効態リン酸は 4.9～6.2 mg/100g 乾土であり，地力増進基本指針[11]における有効態リン酸の改善目標(10 mg/100g 乾土)と比較して低い値であった．このため，熔成りん肥(く溶性りん酸 20 %含有)を 1 試験区当たり 200 g 施用した．

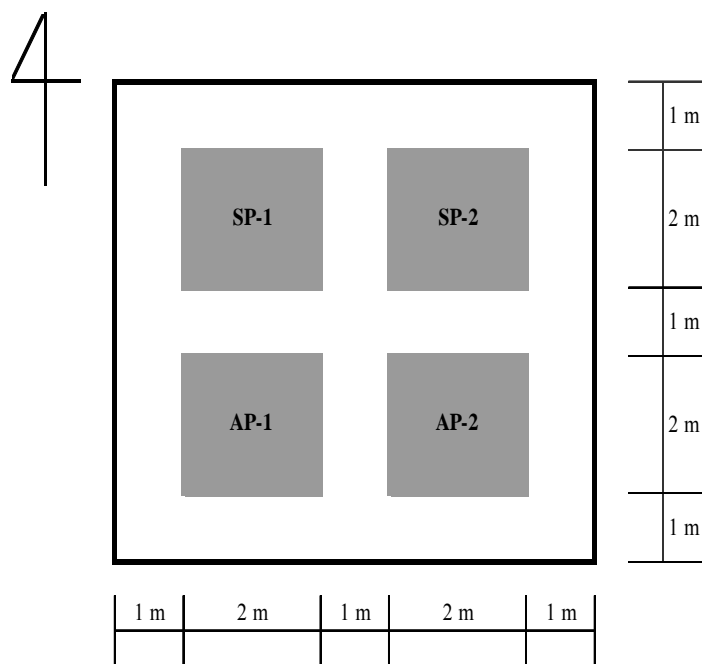



Fig.1 Plot plan of the test field
AP: Sludge-fertilizer-application plot
SP: Standard plot

Table 4 The design of the test plots

	Amont of application	The applied components			
		N	P[1)]	K[2)]	Cd
	(g)	(g)	(g)	(g)	(mg)
<Sludge-fertilizer-application plot (AP)>					
Sludge fertilizer	2000	66	104	7	7.3
Ammonium sulfate	285	60	—	—	—
Ammonium dihydrogenphosphate	—	—	—	—	—
Potassium chloride	103	—	—	65	—
Fused magnesium phosphate	200	—	40	—	—
Total		126	144	72	7
<Standard plot (SP)>					
Sludge fertilizer	—	—	—	—	—
Ammonium sulfate	283	60	—	—	—
Ammonium dihydrogenphosphate	170	20	104	—	—
Potassium chloride	114	—	—	72	—
Fused magnesium phosphate	200	—	40	—	—
Total		80	144	72	0.0

1) Content as P_2O_5

2) Content as K_2O

(4) 栽培方法

供試作物はホウレンソウ(品種名:オーライ)とし,埼玉県の施肥基準を基に栽培を実施した.各試験区の周辺部にはガードプランツとして供試作物を栽培した.

施肥は2012年10月22日に,各試験区の表層土約12 kgを袋に取り,肥料を入れ混合し,各試験区表層に均等に散布した.耕耘機で深さ約15 cmまで耕耘した.

試験区内は9条(条間約20 cm)とし,播種は10月26日にシーダーテープ種子により行った.

間引きは11月13日及び11月29日に行い,農薬散布はヨトウムシ等の害虫防除のため播種時に(2－イソプロピル－4－メチルピリミジル－6)－ジエチルチオホスフェート粒剤を散布した.雑草防除は手除草により適宜実施した.

収穫は2013年3月6日に行い,地際をハサミで切断して地上部のみを収穫した.

(5) 作物体のカドミウム分析

収穫したホウレンソウは直ちに試験区毎に全株重量を測定した.分析用試料として試験区中央の1 m^2 分全てを,水道水,イオン交換水の順に洗浄し,ガラス室で自然乾燥した後に通風乾燥機にて65 ℃で24時間乾燥した.重量を測定した後,目開き500 µm のふるいを通過するまで粉砕機(ZM200:Retsch ロータ回転数6,000 rpm)で粉砕し分析用試料とした.

カドミウム含有量は,分析試料 0.5 g に硝酸 5 mL 及び過酸化水素水 2 mL を加えマイクロ波分解装置(Multiwave 3000:Perkin Elmar)[12)]で分解したものを50 mLに定容し試料溶液とした.測定はICP質量分析装置(ICPM-8500 :島津製作所)により行った.

(6) 跡地土壌の分析

収穫後の跡地土壌は,対角線採土法[13)]により採取した.各試験区の作物体の分析用試料を収穫した場所と同じ試験区中央1 m^2 の四隅及び中央の計5か所より,採土器(内径50 mm×長さ250 mm)を用いて表層から約15 cmまで採取し,通風乾燥機により35 ℃で一晩乾燥後,目開き2 mmのふるいを通過したものを分析用試料とした.

風乾した土壌の水分は,ハロゲン水分計(HG53:メトラー・トレド)により測定した.

土壌pH及びECは風乾土壌1に対して純水5を加え1時間振とう後,pHはガラス電極法(F-23:HORIBA)により,ECは電気伝導率計(F-54:HORIBA)により測定した.

土壌中カドミウムの形態(可溶性)別評価法については,土壌の種類による溶出傾向や作物体の吸収との相関などに対応するための様々な方法が検討されているものの,万能と呼べる方法がない状況にある.そこで統一的な尺度として,政令[14)]で定められた0.1 mol/L HCl-Cd及び交換性陽イオンの測定に用いられており[15)],0.1 mol/L HCl-Cd と比較してより多くの各種作物体のカドミウム濃度と相関があると報告されている[16～17)] 1 mol/L 酢安(pH 7.0)-Cd を選択した.また,参考として供試汚泥肥料中にカドミウムと比較して多量に含まれる銅及び亜鉛の土壌蓄積状況を確認するため,1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液(pH 7.0)可溶銅及び亜鉛(以下,1 mol/L 酢安(pH 7.0)-Cu 及び Zn)についても測定した.

土壌中の0.1 mol/L HCl-Cdは,土壌10 gに対し0.1 mol/L 塩酸50 mLを加え約30 ℃に保ち1時間振とうして抽出したカドミウムをICP質量分析法により測定した.

土壌中の1 mol/L酢安(pH 7.0)-Cd,Cu及びZnは,土壌2.5 gに対し1 mol/L酢酸アンモニウム溶液(pH 7.0) 50 mLを加え約20～30 ℃に保ち1時間振とうして抽出したカドミウム,銅及び亜鉛をICP質量分析法により測定した.

2） 2013 年夏作の連用試験（2013 年 7 月 17 日～2013 年 10 月 22 日）

（1） 試験圃場及び供試土壌

試験圃場及び供試土壌として 2.1）の試験の汚泥肥料施用区及び標準区の跡地を引き続き使用した．土壌の種類，土性，及び前作跡地の pH，EC，有効態リン酸（トルオーグ法）[13]，全窒素，全炭素及び 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度を Table 5 に示す．

Table 5 Characteristics of soil used in this study

	Unit	year	AP [1]-1	AP [1]-2	SP [2]-1	SP [2]-2
pH (H_2O) [3]		2009[7]	6.1	6.1	6.2	6.2
		2013[8]	6.8	6.7	6.5	6.5
EC [4]	mS/m	2009	10.0	10.3	14.0	11.6
		2013	19.4	19.6	17.5	18.7
Total nitrogen [5]	% [6]	2013	0.42	0.43	0.40	0.42
Total carbon [5]	% [6]	2013	5.6	5.6	5.4	5.5
Available phosphate [5]	mg/100g dry soil	2009	5.8	6.1	7.7	6.9
		2013	5.4	5.4	8.2	7.3
0.1 mol /L HCl-Cd [5]	mg/kg	2009	0.18	0.19	0.18	0.21
		2013	0.20	0.21	0.16	0.18
Kind of soil			Andosol		Andosol	
Soil texture			Light clay		Light clay	

1) Sludge-fertilizer-application plot

2) Standard plot

3) Soil pH determined on 1 : 5 (soil : water) suspensions with a glass electrode, n= 1

4) Soil electrical conductivity determined on 1:5 (soil:water) suspensions
with an electricalconductivity meter, *n* = 1

5) Content in the dry matter, average (*n* = 2)

6) Mass fraction

7) The year when the study was designed to evaluate the effects of sluge fertilizer aplications
on soil intended for long-term use

8) The year when this study was conducted.

（2） 供試肥料等

供試肥料及び補正肥料は 2.1）（2）と同様のものを用いた．

（3） 試験区の構成

試験区の構成は 2.1）（3）と同様に配置した．施肥量は埼玉県のニンジン施肥基準[5]を基に設計した．汚泥肥料の施用量は，前作同様 500 kg/10 a（現物），窒素肥効率を 30 %として計算し，不足分を補正肥料で施用した．りん酸及び加里についても不足分は補正肥料を用いて調整した．標準区については，補正肥料を用いて汚泥肥料施用区と同様の成分量になるよう調整し施用した（Table 6 参照）．

また, 前作(2012 年冬作)の跡地土壌を分析したところ, 各試験区の有効態リン酸は 5.4～8.2 mg/100 g 乾土であり, 地力増進基本指針[11)]における有効態リン酸の改善目標(10 mg/100g 乾土)に比べて低い値であった. このため, 熔成りん肥(く溶性りん酸 20 %含有)を 1 試験区当たり 200 g 施用した.

Table 6 The design of the test plots

	Amont of application	The applied components			
		N	P[1)]	K[2)]	Cd
	(g)	(g)	(g)	(g)	(mg)
<Sludge-fertilizer-application plot (AP)>					
Sludge fertilizer	2000	66	104	7	7.3
Ammonium sulfate	323	68	—	—	—
Ammonium dihydrogenphosphate	—	—	—	—	—
Potassium chloride	115	—	—	73	—
Fused magnesium phosphate	200	—	40	—	—
Total		134	144	80	7.3
<Standard plot (SP)>					
Sludge fertilizer	—	—	—	—	—
Ammonium sulfate	321	68	—	—	—
Ammonium dihydrogenphosphate	170	20	104	—	—
Potassium chloride	127	—	—	80	—
Fused magnesium phosphate	200	—	40	—	—
Total		88	144	80	0.0

1) Content as P_2O_5

2) Content as K_2O

(4) 栽培方法

供試作物はニンジン(品種名:ベーターリッチ)とした. 各試験区の周辺部にはガードプランツとして供試作物を栽培した.

施肥は 2013 年 6 月 24 日に行った. 各試験区の表層土約 12 kg を袋に取り, 肥料を入れ混合し, 各試験区表層に均等に散布した. 耕耘機で深さ約 15 cm まで耕耘した.

試験区内は 9 条(条間約 20 cm)とし, 播種は 7 月 17 日にシーダーテープ種子を用いて行った.

間引きは 8 月 1 日及び 8 月 16 日に行い, 収穫時の株間が約 5 cm となるようにした.

農薬散布はヨトウムシ等の害虫防除のため, 施肥時に(2－イソプロピル－4－メチルピリミジル－6)－ジエチルチオホスフェート粒剤を散布した. 雑草防除は手除草により適宜実施した. 栽培期間中は例年に比べて高温少雨であったため, 適宜水道水によるかん水を行った.

収穫は 2013 年 10 月 22 日に行い, 葉部と根部を収穫した.

(5) 作物体のカドミウム分析

収穫したニンジンは水道水洗浄後, 試験区毎に全株重量を測定した. 分析用試料として試験区中央の 1 m^2 分全てを根部と葉部に切り分け, 部位別に重量を測定した. 根部はイオン交換水ですすぎ, 自然乾燥して薄く

切り分けた後，通風乾燥機により 65 ℃で 24 時間乾燥を行い重量を測定した．葉部は葉が重ならないように広げ，自然乾燥し，その後，通風乾燥機により 65 ℃で 24 時間乾燥を行い重量を測定した．乾燥した根部及び葉部は，それぞれ目開き 1 mm 及び 500 µm のふるいを通過するまで超遠心粉砕機（ZM200:Retsch ロータ回転数 6,000 rpm）で粉砕した．

カドミウム含有量の分析は，2.1).(5)と同様に行った。

（6） 跡地土壌の分析

収穫後の土壌の採取及び分析は，2.1).(6)と同様に行った．

3. 結 果

1） 2012 年連用試験（冬作ホウレンソウ：2012 年 10 月 26 日～2013 年 3 月 6 日）

（1） 作物体の収量及びカドミウム吸収量

播種から収穫までの栽培期間は約 4 ヶ月半であり，その間の生育に異常な症状等は観察されなかった．

ホウレンソウの収量，カドミウム濃度及び吸収量を Table 7 に示した．汚泥肥料施用区及び標準区の収量は，生体重平均値でそれぞれ 11.28 kg と 13.33 kg であり，有意差は認められなかった($p > 0.05$)．カドミウム濃度については，汚泥肥料施用区は平均値で 0.56 mg/kg，標準区は 0.47 mg/kg であり，汚泥肥料施用区が有意に高かった($p < 0.05$)．カドミウム吸収量については，両試験区ともに平均値で 0.75 mg/試験区と同程度であった．

Table 7 Cadmium uptake and yield of spinach in the test

	Part	Unit	Test plot-1		Test plot-2		Average	t-test
<Sludge-fertilizer-application plot (AP)>								
Fresh weight	edible portion	kg	10.95		11.60		11.28	n.s. [3]
Dry weight	edible portion	kg	1.30		1.41		1.36	n.s.
Cadmium concentration[1]	edible portion	mg/kg	0.57	0.58	0.53	0.54	0.56	significance [4]
Quantity of cadmium uptake[2]	edible portion	mg/plot	0.74	0.75	0.75	0.77	0.75	n.s.
<Standard plot (SP)>								
Fresh weight	edible portion	kg	13.75		12.90		13.33	
Dry weight	edible portion	kg	1.67		1.53		1.60	
Cadmium concentration[1]	edible portion	mg/kg	0.49	0.49	0.46	0.43	0.47	
Quantity of cadmium uptake[2]	edible portion	mg/plot	0.83	0.81	0.70	0.66	0.75	

1) Content in the drying soil

2) Quantity of cadmium uptake = Harvest (dry weight) × Cadmium concentration (dry matter)

3) It is no significantly different for standard plot (t-test, 5 % of both sides levels of significance, the harvest is n= 2, the cadmium quantity of cadmium uptake is n = 4 (2×2) (repetition × number of samples))

4) It is significantly different for Standard plot (t-test, 5 % of both sides levels of significance, the cadmium concentration is n = 4 (2×2) (repetition × number of samples))

(2) 跡地土壌のカドミウム濃度

跡地土壌の 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度，1 mol/L 酢安(pH 7.0)-Cd 濃度，pH 及び EC を Table 8 に示した．0.1 mol/L HCl-Cd 濃度は，平均値で汚泥肥料施用区は 0.21 mg/kg，標準区は 0.17mg/kg であり，汚泥肥料施用区が有意に高かった($p<0.05$)．1 mol/L 酢安(pH 7.0)-Cd 濃度は，平均値で汚泥肥料施用区は 0.038 mg/kg，標準区は 0.032 mg/kg であり，汚泥肥料施用区が有意に高かった($p<0.05$)．

Table 8 Characteristics of soil used in this study

	Unit	Test plot-1		Test plot-2		Average	t-test
< Sludge-fertilizer-application plot (AP) >							
0.1 mol /L HCl-Cd [1)]	mg/kg	0.20	0.20	0.21	0.21	0.21	significance [5)]
Exchangeable-Cd [2)]		0.037	0.038	0.039	0.037	0.038	significance
pH (H_2O) [3)]		6.8		6.7			
EC [4)]	mS/m	19.4		19.6			
< Standard plot (SP) >							
0.1 mol /L HCl-Cd [1)]	mg/kg	0.16	0.16	0.18	0.18	0.17	
Exchangeable-Cd [2)]		0.030	0.031	0.036	0.032	0.032	
pH (H_2O) [3)]		6.5		6.5			
EC [4)]	mS/m	17.5		18.7			

1) Content of cadmium dissolved with 0.1 mol/L hydrochloric acid in the drying soil
2) Content of cadmium dissolved with pH 7.0, 1 mol/L ammonium acetate solution in the drying soil
3) Soil pH determined on 1 : 5 (soil : water) suspensions with a glass electrode, n= 2
4) Soil electrical conductivity determined on 1 : 5 (soil : water) suspensions with an electrical conductivity meter, n= 2
5) It is significantly different for standard plot (t-test, 5 % of both sides levels of significance, n = 4 (2×2) (repetition × number of samples))

2) 2013 年連用試験(夏作ニンジン:2013 年 7 月 17 日～2013 年 10 月 22 日)

(1) 作物体の収量及びカドミウム吸収量

播種から収穫までの栽培期間は約 3 ヶ月であり，その間は，例年に比べて高温少雨傾向で特に発芽後に枯死する個体が多く認められた．また，収穫直前には，一部の葉にうどん粉病と思われる病徴や虫による葉の食害が認められたが，それ以外は異常な症状等は観察されなかった．

ニンジンの収量，カドミウム濃度及び吸収量を Table 9 に示した．汚泥肥料施用区及び標準区の収量は，生体重平均値で根部がそれぞれ 12.15 kg と 10.33 kg，葉部がそれぞれ 5.43 kg と 4.58 kg であり，有意差は認められなかった($p>0.05$)．

汚泥肥料施用区及び標準区のカドミウム濃度については，平均値で根部がそれぞれ 0.18 mg/kg と 0.15 mg/kg，葉部がそれぞれ 0.33 mg/kg と 0.28 mg/kg であり，葉部については汚泥肥料施用区が有意に高かった($p<0.05$)．汚泥肥料施用区及び標準区の試験区当たりのカドミウム吸収量については，平均値で根部がそれぞれ 0.22 mg と 0.17 mg，葉部がそれぞれ 0.24 mg と 0.18 mg であり，根部及び葉部ともに汚泥肥料施用区が有意

に高かった(p＜0.05)．作物体全体の試験区当たりのカドミウム吸収量の平均値は汚泥肥料施用区で 0.46 mg，標準区で 0.34 mg であり，汚泥肥料施用区が有意に高かった(p＜0.05)．

Table 9 Cadmium uptake and yield of carrot in the test

	Part	Unit	Test plot-1		Test plot-2		average	t-test
< Sludge-fertilizer-application plot（AP）>								
Fresh weight	Root	kg	11.50		12.80		12.15	n.s.[3)]
	Leaf	kg	5.20		5.65		5.43	n.s.
	Total	kg	16.70		18.45		17.58	n.s.
Dry weight	Root	kg	1.23		1.26		1.25	n.s.
	Leaf	kg	0.71		0.72		0.71	n.s.
	Total	kg	1.94		1.98		1.96	n.s.
Cadmium concentration[1)]	Root	mg/kg	0.17	0.20	0.16	0.19	0.18	n.s.
	Leaf	mg/kg	0.34	0.35	0.32	0.32	0.33	significance [4)]
Quantity of cadmium uptake[2)]	Root	mg/plot	0.21	0.25	0.20	0.23	0.22	significance
	Leaf	mg/plot	0.24	0.25	0.23	0.23	0.24	significance
	Total	mg/plot	0.46	0.50	0.43	0.46	0.46	significance
< Standard plot (SP) >								
Fresh weight	Root	kg	9.35		11.30		10.33	
	Leaf	kg	4.15		5.00		4.58	
	Total	kg	13.50		16.30		14.90	
Dry weight	Root	kg	1.00		1.21		1.10	
	Leaf	kg	0.56		0.71		0.63	
	Total	kg	1.56		1.91		1.74	
Cadmium concentration[2)]	Root	mg/kg	0.16	0.17	0.14	0.14	0.15	
	Leaf	mg/kg	0.31	0.30	0.26	0.26	0.28	
Quantity of cadmium uptake[2)]	Root	mg/plot	0.16	0.17	0.17	0.16	0.17	
	Leaf	mg/plot	0.17	0.17	0.19	0.18	0.18	
	Total	mg/plot	0.34	0.34	0.36	0.34	0.34	

1) Content in the drying soil
2) Quantity of cadmium uptake = Harvest (dry weight) × Cadmium concentration (dry matter)
3) It is no significantly different for standard plot (t-test, 5% of both sides levels of significance, the harvest is n= 2, cadmium concentration is n = 4 (2×2) (repetition × number of samples))
4) It is significantly different for Standard plot (t-test, 5 % of both sides levels of significance, the cadmium concentration and cadmium quantity of cadmium uptake are n = 4 (2×2) (repetition × number of samples))

（2） 跡地土壌のカドミウム濃度

跡地土壌の 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度，1 mol/L 酢安（pH 7.0）-Cd 濃度，pH 及び EC を Table 10 に示した．0.1 mol/L HCl-Cd 濃度は，汚泥肥料施用区は 0.20 mg/kg，標準区は 0.16 mg/kg で，汚泥肥料施用区が有意に高かった(p＜0.05)．1 mol/L 酢安（pH 7.0）-Cd 濃度は，汚泥肥料施用区は 0.038 mg/kg，標準区は 0.031 mg/kg で，汚泥肥料施用区が有意に高かった(p＜0.05)．

Table 10 Characteristics of soil used in this study

	Unit	Test plot-1		Test plot-2		Average	t-test
< Sludge-fertilizer-application plot（AP）>							
0.1 mol /L HCl-Cd [1)]	mg/kg	0.20	0.19	0.20	0.20	0.20	significance [5)]
Exchangeable-Cd [2)]		0.038	0.036	0.039	0.038	0.038	significance
pH（H_2O）[3)]		6.1		6.2			
EC [4)]	mS/m	15.1		16.8			
< Standard plot (SP) >							
0.1 mol /L HCl-Cd [1)]	mg/kg	0.15	0.16	0.17	0.17	0.16	
Exchangeable-Cd [2)]		0.030	0.029	0.032	0.031	0.031	
pH（H_2O）[3)]		6.0		6.1			
EC [4)]	mS/m	16.3		16.7			

1) Content of cadmium dissolved with 0.1 mol/L hydrochloric acid in the drying soil
2) Content of cadmium dissolved with pH 7.0, 1 mol/L ammonium acetate solution in the drying soil
3) Soil pH determined on 1 : 5 (soil : water) suspensions with a glass electrode, n= 2
4) Soil electrical conductivity determined on 1 : 5 (soil : water) suspensions with an electrical conductivity meter, n= 2
5) It is significantly different for standard plot (t-test, 5 % of both sides levels of significance, n = 4 (2×2) (repetition × number of samples))

4. 考　察

1） 2009 年連用試験開始時からの推移について

2009 年の試験開始時から，これまで 5 年間，年 2 作，計 9 作（2013 年冬作は実施中）の試験を行った．各測定結果の推移については下記のとおりであった．

（1） 作物体の収量

作物体の収量（生体重）の推移は Table 11 のとおりである．これまでの試験の収量は，参考にした自治体施肥基準に記載されている目標収量と同等以上であり，一定の収量を確保できていると考えられる．標準区に対する汚泥肥料施用区の生体重指数を見ると，主に葉菜類において，汚泥肥料施用区の収量が 8 割程度となっていた．これは，汚泥肥料施用区の施肥設計において，汚泥肥料の連用による残効[18)]を考慮して，窒素肥効率を 100 %として計算していたが，連用 6 作目の 2011 年冬作ホウレンソウにおいても収量が標準区に対して 8 割程度であった．この原因として，窒素要求量の比較的少ないニンジン（2009 年夏作）では両試験区間での収量が同程度であったことから，汚泥肥料の窒素肥効率が標準区の試薬よりも低いことが考えられる．そこで，2012 年は，汚泥肥料の窒素肥効率を夏作 50 %，冬作 30 %として施肥した．その結果， 2012 年冬作ホウレンソウでは，標準区を 100 とした汚泥肥料施用区の生体重指数は 85 となり，汚泥肥料の窒素肥効率 30 %とした施肥量では同等の収量とはならなかった．

改めて供試肥料であるし尿汚泥肥料の窒素無機化率を確認するため，無機化試験（恒温槽 30 ℃で 240 日間培養）を実施したところ，培養期間 90 日以降は無機化率 30 %で推移した．この結果から，2013 年夏作ニンジンは汚泥肥料の窒素肥効率を 30 %として施肥したところ，汚泥肥料施用区の生体重指数は 118 となった．これは，

前作である冬作の残効があることが考えられる．このことから，供試肥料としているし尿汚泥肥料については，窒素肥効率を夏作ニンジンでは 50 %，冬作ホウレンソウでは 10 %として施肥設計を計算することが適当と考えられる．このため， 2013 年冬作ホウレンソウ試験においては，供試汚泥肥料の窒素肥効率を 10 %として施肥している．

Table 11 The yield of each crop body of 2009 to 2013 (fresh weight)

Year	Season	Test crops	Part	AP[1] Fresh weight (kg/plot)		SP[2] Fresh weight (kg/plot)		Aim yield[3] (kg/plot)	Fresh weight index of AP[4]
2009	Summer	Carrot	Root	18.0	(0.1)[5]	17.9	(1.0)	-	101
			Leaf	10.5	(0.4)	9.6	(0.9)	-	109
			Total	28.5	(0.4)	27.6	(1.8)	16	104
2009	Winter	Spinach	Edible portion	13.7	(0.8)	18.6	(1.0)	8	74
2010	Summer	Spinach	Edible portion	4.5	(0.1)	5.8	(0.6)	4	77
2010	Winter	Qing geng cai	Edible portion	22.4	(0.7)	26.9	(0.8)	12	83
2011	Summer	Turnip	Root	8.9	(0.6)	9.4	(0.9)	-	95
			Leaf	8.7	(1.0)	10.0	(1.3)	-	88
			Total	17.6	(1.5)	19.3	(2.2)	16	91
2011	Winter	Spinach	Edible portion	8.1	(0.0)	10.3	(0.5)	8	79
2012	Summer	Carrot	Root	12.3	(0.5)	12.1	(0.2)	-	101
			Leaf	10.0	(0.6)	9.7	(0.8)	-	103
			Total	22.3	(0.1)	21.8	(0.5)	14	102
2012	Winter	Spinach	Edible portion	11.3	(0.5)	13.3	(0.6)	8	85
2013	Summer	Carrot	Root	12.2	(0.9)	10.3	(1.4)	-	118
			Leaf	5.4	(0.3)	4.6	(0.6)	-	119
			Total	17.6	(1.2)	14.9	(2.0)	14	118

1) Sludge-fertilizer-application plot
2) Standard plot
3）This value is shown in the recommending rate of fertilizer application (local government) exchanging aim yield (kg/10 a) to 4 m^2.
4）Fresh weight index of sludge-fertilizer-application plot when standard plot assume 100.
5）Standard deviation (n = 2 (2 repetition))

（2） 跡地土壌の pH

跡地土壌 pH の推移は Fig.2 のとおりである．pH 6.0～6.7 の範囲内で処理間差も小さく推移している．石灰含量の低い高分子凝集汚泥を連用施用した場合に土壌 pH が低下することが知られている[10)]が，本試験では pH 6.0 を下回らないよう，適宜，石灰資材による pH の補正を行っており，供試土壌が黒ボク土であることや，高分子凝集剤を使用したし尿汚泥肥料の施用量が極端に多くないため，連用施用による pH の変動は比較的少ないものとなっていると考えられる．土壌 pH の変動は，土壌中カドミウムの作物体への可給性に影響を及ぼすことが知られている[19, 20)]．本試験では，汚泥肥料施用区と標準区の跡地土壌 pH は，ほぼ同程度で推移していることから，各試験でのカドミウム動態の処理間差に土壌 pH はほとんど影響していないものと考えられる．

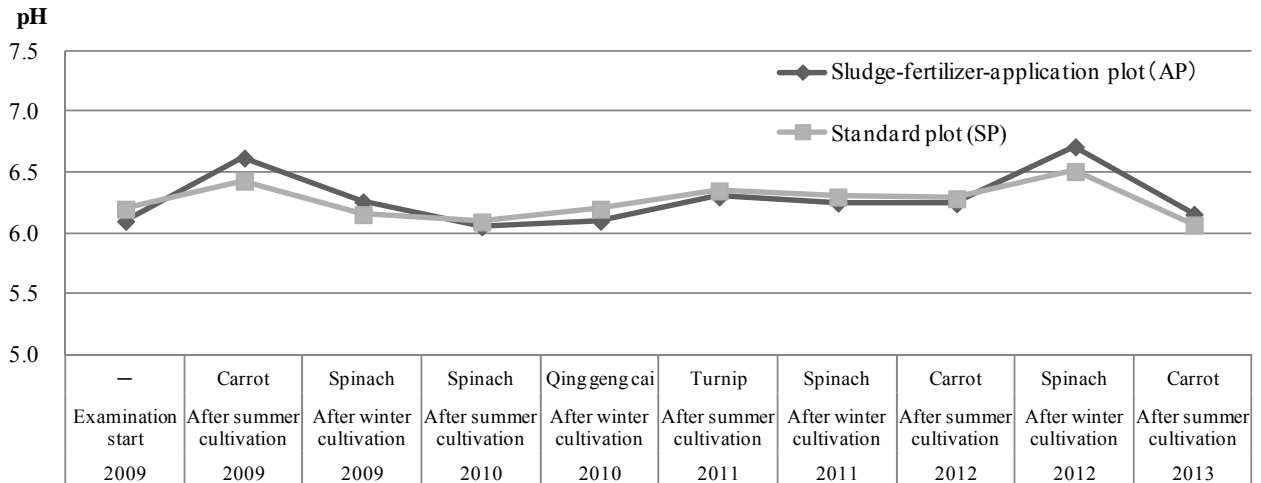



Fig. 2　Changes of the pH of cultivated soil

(3)　跡地土壌の 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度

跡地土壌の 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度の推移は Table 12 及び Fig.3 のとおりである.

汚泥肥料施用区及び標準区の 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度の推移について傾向を把握するため，それぞれの処理区における，試験開始時からの経過月(各試験の間隔は 6 ヶ月とした)に対する 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度の線形単回帰分析を行った(単回帰式の分散分析表の p 値により評価，両側有意水準 5 %) (Table 12). 2013 年夏作跡地までの汚泥肥料施用区の回帰は有意でなく(p＝0.89)一定で推移している傾向であった. 一方，標準区では，2011 年冬作跡地以降，回帰が有意となり下降傾向が認められ(p＜0.05)，両試験区間の差は大きくなる傾向であった. また，2011 年冬作以降，汚泥肥料施用区が標準区に比べて有意に高くなり，同様の結果が続いている. これは，標準区は肥料由来のカドミウム負荷がないため，各試験において作物体の収穫により土壌中カドミウムの圃場外への持ち出しが継続されること等により，跡地土壌の 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度についても減少する傾向となっていると考えられる.

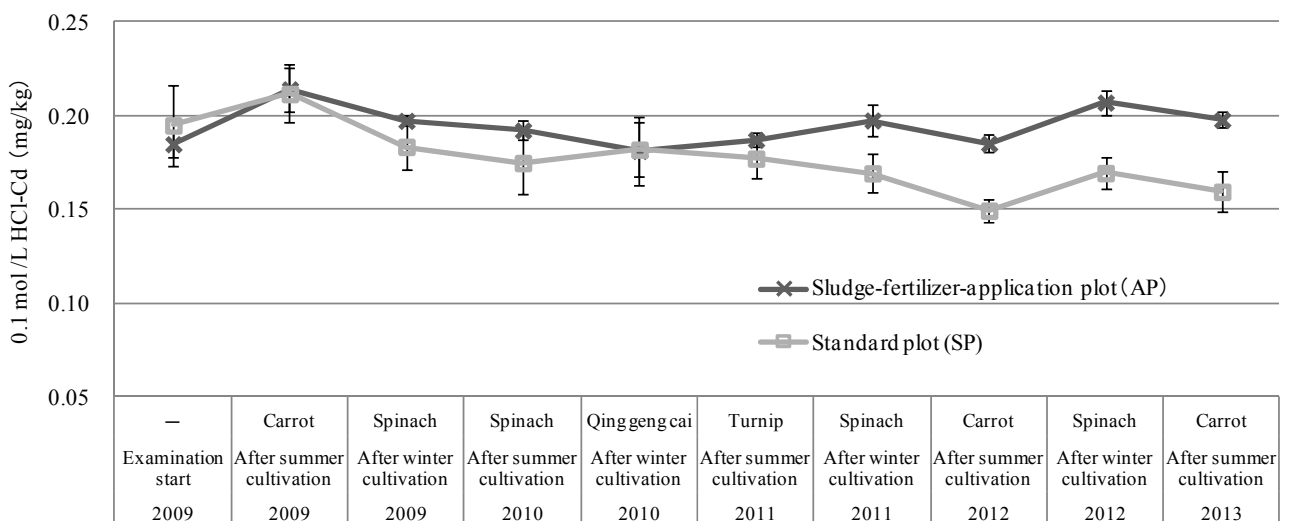



Fig. 3　Changes of the 0.1 mol/L HCl-Cd density of cultivated soil

(The error bar indicating the standard deviation)

Table 12 Change of the 0.1 mol/L HCl-Cd density[1)] of ruins soil

Year	Season	Test crops	AP [2)] (mg/kg)		SP [3)] (mg/kg)		t-test (difference between the processing)	p-value of single regression analysis[4)]	
								AP [2)]	SP [3)]
2009	Start	―	0.19	(0.01) [5)]	0.20	(0.02)	n.s.[6)]	―	―
2009	Summer	Carrot	0.21	(0.01)	0.21	(0.02)	n.s.	―	―
2009	Winter	Spinach	0.20	(0.003)	0.18	(0.01)	n.s.	―	―
2010	Summer	Spinach	0.19	(0.01)	0.17	(0.02)	n.s.	―	―
2010	Winter	Qing geng cai	0.18	(0.02)	0.18	(0.01)	n.s.	0.55	0.20
2011	Summer	Turnip	0.19	(0.004)	0.18	(0.01)	n.s.	0.41	0.11
2011	Winter	Spinach	0.20	(0.01)	0.17	(0.01)	significance [7)]	0.63	0.03 [8)]
2012	Summer	Carrot	0.19	(0.005)	0.15	(0.01)	significance	0.41	0.01 [8)]
2012	Winter	Spinach	0.21	(0.01)	0.17	(0.01)	significance	0.98	0.01 [8)]
2013	Summer	Carrot	0.20	(0.004)	0.16	(0.01)	significance	0.89	0.002 [8)]

1）Content in the drying soil
2) Sludge-fertilizer-application plot
3) Standard plot
4) The p-value which calculated from dispersion analysis for linear regression by examination start of each examination plot.
5) Standard deviation (n = 4 (2×2) (repetition × number of samples))
6) It is no significantly different for Processing examination section (t-test, 5 % of both sides levels of significance, n = 4 (2×2) (repetition × number of samples))
7) It is significantly different for Processing examination section (t-test, 5% of both sides levels of significance, n = 4 (2×2) (repetition × number of samples))
8) It show that regression is significant in $p < 0.05$（5 % of both sides levels of significance）.

（4） 跡地土壌の 1 mol/L 酢安（pH 7.0）-Cd 濃度

跡地土壌の 1 mol/L 酢安（pH 7.0）-Cd 濃度の推移（2009 年冬作～2013 年夏作まで）は Table 13 及び Fig.4 のとおりである．

汚泥肥料施用区及び標準区の 1 mol/L 酢安（pH 7.0）-Cd 濃度の推移について傾向を把握するため，それぞれの処理区における，2010 年冬作からの経過月（各試験の間隔は 6 ヶ月とした）に対する 1 mol/L 酢安（pH 7.0）-Cd 濃度の線形単回帰分析を行った（単回帰式の分散分析表の p 値により評価，両側有意水準 5 %）（Table 13）. 2013 年夏作跡地までの汚泥肥料施用区の回帰は有意でなく($p > 0.05$)，一定で推移している傾向であった．一方，標準区では，2012 年夏作跡地以降，回帰が有意となり（$p < 0.05$）下降傾向が認められ，両試験区間の差は大きくなる傾向であった．この傾向は 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度と同様であった（Table 12 及び Fig.3）.

Table 13 Change of the exchangeable-Cd density[1)] of cultivated soil

Year	Season	Test crops	AP [2)] (mg/kg)		SP [3)] (mg/kg)		t-test (difference between the processing)	p-value of single regression analysis[4)]	
								AP [2)]	SP [3)]
2009	Winter	Spinach	0.036	(0.002)[5)]	0.037	(0.002)	n.s. [6)]	—	—
2010	Summer	Spinach	0.038	(0.002)	0.036	(0.003)	n.s.	—	—
2010	Winter	Qing geng cai	0.041	(0.001)	0.037	(0.001)	significance [7)]	—	—
2011	Summer	Turnip	0.036	(0.0004)	0.035	(0.003)	n.s.	—	—
2011	Winter	Spinach	0.039	(0.001)	0.035	(0.002)	significance	0.58	0.13
2012	Summer	Carrot	0.037	(0.001)	0.032	(0.001)	significance	0.93	0.03 [8)]
2012	Winter	Spinach	0.038	(0.001)	0.032	(0.003)	significance	0.93	0.004 [8)]
2013	Summer	Carrot	0.038	(0.001)	0.031	(0.001)	significance	0.91	0.0005 [8)]

1) Content of cadmium dissolved with pH 7.0, 1 mol/L ammonium acetate solution in the drying soil

2) Sludge-fertilizer-application plot

3) Standard plot

4) The p-value which calculated from dispersion analysis for linear regression by examination start of each examination plot.

5) Standard deviation (n = 4 (2×2) (repetition × number of samples))

6) It is no significantly different for Processing examination section (t-test, 5 % of both sides levels of significance, n = 4 (2×2) (repetition × number of samples))

7) It is significantly different for Processing examination section (t-test, 5% of both sides levels of significance, n = 4 (2×2) (repetition × number of samples))

8) It show that regression is significant in $p < 0.05$ (5 % of both sides levels of significance).

Fig. 4 Changes of the exchangeable-Cd density of cultivated soil (The error bar indicating the standard deviation)

(5) 跡地土壌の 1 mol/L 酢安(pH 7.0)-Cu 及び Zn 濃度

跡地土壌の 1 mol/L 酢安(pH 7.0)-Cu 及び Zn 濃度の推移(2009 年冬作～2013 年夏作まで)は Table 14 及び Fig.5 のとおりである. 汚泥肥料中にカドミウムと比較して多量に含まれる銅及び亜鉛について, カドミウムの土壌蓄積の参考とするため推移を確認した.

汚泥肥料施用区及び標準区の1 mol/L 酢安（pH 7.0）-Cu及びZn濃度の推移について傾向を把握するため，それぞれの処理区における，2009年冬作からの経過月（各試験の間隔は6ヶ月とした）に対する1 mol/L 酢安（pH 7.0）-Cu及びZn濃度の線形単回帰分析を行った（単回帰式の分散分析表のp値により評価，両側有意水準5 %）．1 mol/L 酢安（pH 7.0）-Cu については，2013年夏作跡地までの汚泥肥料施用区及び標準区の回帰は有意でなく（$p > 0.05$），一定で推移している傾向であった．1 mol/L 酢安（pH 7.0）-Zn については，汚泥肥料施用区では，2011年冬作跡地以降，回帰が有意となり（$p < 0.05$）上昇傾向が認められた．一方，標準区は一定で推移しており（$p > 0.05$），両試験区間の差は大きくなる傾向であった．

黒ボク土を用いた高分子凝集剤を使用した汚泥の連用ポット試験において，汚泥の連用によって土壌中の可溶性のカドミウム，銅及び亜鉛の増加が認められ，施肥量が多いほど蓄積量は多く，銅及びカドミウム濃度の増加傾向は亜鉛ほど顕著ではなかったことが報告されており[21)]，この報告と今回の結果は矛盾しないものであった．

土壌では粘土や有機物に重金属は吸着され蓄積する．その吸着の強さは腐植質火山灰土壌の腐植酸を用いた測定ではpH 5の場合「銅＞亜鉛＞カドミウム」となっている[22)]．1 mol/L 酢安（pH 7.0）-Cuが一定で推移している理由として，土壌有機物等への吸着が比較的強いため，現状の負荷量では可溶化する銅が増加していないことが考えられる．一方，1 mol/L 酢安（pH 7.0）-Zn が上昇傾向である理由は，供試汚泥肥料中の亜鉛濃度が 1,760 mg/kg（Table 2）と銅やカドミウムと比較して非常に高く，銅よりも土壌中で動きやすいために汚泥肥料の連用施用により上昇傾向となっていると考えらえる．カドミウムについては，亜鉛及び銅と比較して連用による負荷量は少ないものの，亜鉛よりも土壌中で動きやすいことから，汚泥肥料を長期連用した場合や大量施用により負荷量が増大した場合は，亜鉛と同様に作物に吸収可能なカドミウム濃度が上昇傾向となる可能性が考えられる．

また，亜鉛濃度の高い汚泥肥料を連用した試験において，負荷量が多い試験区（1 作当たり 2 t/10a 及び 6 t/10a）の7作目（コマツナ）及び9作目（コカブ）において土壌のpH 6.0未満という条件で亜鉛の過剰症状（クロロシス及び生育抑制）が認められたという報告がある[23)]．本試験では土壌pHを6.0以上に保っているため条件が異なるが，汚泥肥料を多量に長期連用する場合には，土壌pHの変動とともに亜鉛の過剰症状についても注意する必要があると考えられた．

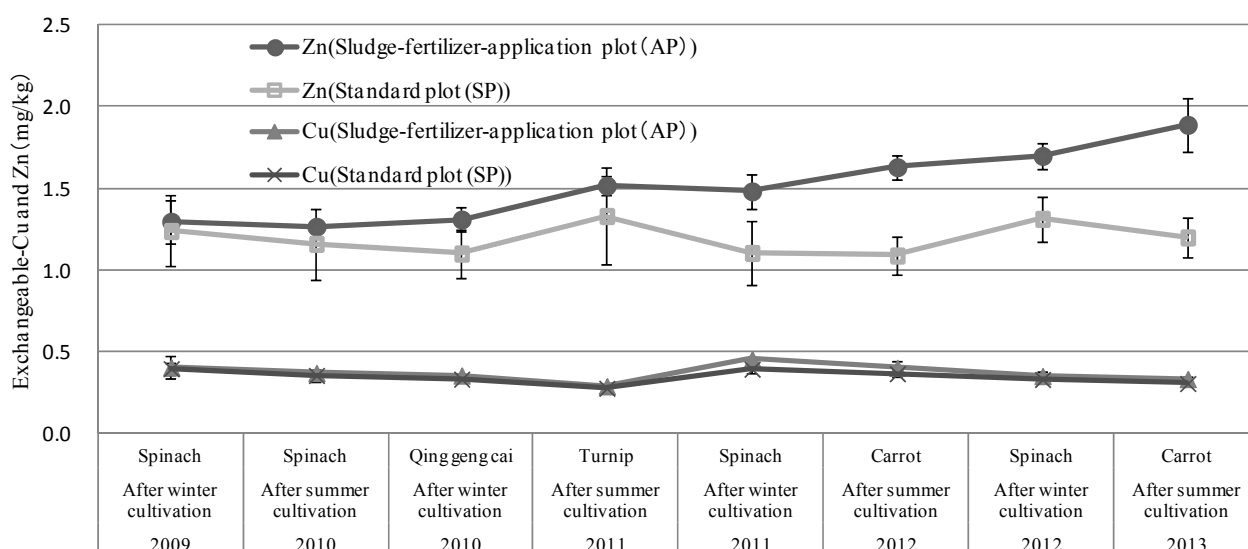



Fig. 5 Changes of the exchangeable-Cu and Zn density of cultivated soil
(The error bar indicating the standard deviation)

Table 14　Change of the exchangeable-Cu and Zn density[1)] of cultivated soil

Year	Season	Test crops	Cu				Zn			
			AP[2)] (mg/kg)		SP[3)] (mg/kg)		AP[2)] (mg/kg)		SP[3)] (mg/kg)	
2009	Winter	Spinach	0.40	(0.07)[4)]	0.40	(0.03)	1.3	(0.1)	1.2	(0.2)
2010	Summer	Spinach	0.37	(0.02)	0.36	(0.04)	1.3	(0.04)	1.2	(0.2)
2010	Winter	Qing geng cai	0.35	(0.004)	0.33	(0.004)	1.3	(0.1)	1.1	(0.1)
2011	Summer	Turnip	0.29	(0.002)	0.28	(0.01)	1.5	(0.1)	1.3	(0.3)
2011	Winter	Spinach	0.46	(0.01)	0.39	(0.02)	1.6	(0.2)	1.3	(0.3)
2012	Summer	Carrot	0.40	(0.04)	0.37	(0.02)	1.6	(0.1)	1.1	(0.1)
2012	Winter	Spinach	0.35	(0.02)	0.33	(0.03)	1.7	(0.1)	1.3	(0.1)
2013	Summer	Carrot	0.33	(0.02)	0.31	(0.01)	1.9	(0.2)	1.2	(0.1)

1) Content of copper and zinc dissolved with pH 7.0, 1 mol/L ammonium acetate solution in the drying soil
2) Sludge-fertilizer-application plot
3) Standard plot
4) Standard deviation (n = 4 (2×2) (repetition × number of samples))

(6)　作物体のカドミウム濃度及び吸収量

各試験での作物体のカドミウム濃度及び吸収量の推移はTable 15及びFig.6のとおりである．ニンジンについては，過去3回，ホウレンソウについては，過去4回試験を実施しているが，汚泥肥料の施用量や連用回数に関わらず，試験を行った年や季節によって作物体のカドミウム濃度は変動していた．これは，栽培期間中の降水量や気温等の気象条件が影響していると考えられる[24)]．

試験開始時(2009 年夏作)から 2013 年夏作までの作物体のカドミウム濃度は，概ね Codex 基準値[25)]の 1/4 以下程度で推移している．しかし，2010 年夏作ホウレンソウのカドミウム濃度は，汚泥肥料施用区及び標準区ともにCodex 基準値(葉菜　現物濃度　0.2 mg/kg)の 8 割程度と顕著に高い濃度であった．跡地土壌の pH 及び 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度には大きな変動は認められていないことから，気象条件等によっては作物体中のカドミウム濃度が大幅に高まる場合があることが考えられる．

2009 年冬作及び 2010 年夏作ホウレンソウのカドミウム吸収量は，標準区が汚泥肥料施用区に比べて有意に多かった(p＜0.05)．これは，汚泥肥料施用区に比べて標準区の収量が 2 割程度多かった(Table 11)ためと考えられる．一方で，作物体中のカドミウム濃度では両試験区で有意差は認められず(p＞0.05)，これはホウレンソウの生育量とカドミウム濃度に関係は認められないという報告[26)]と一致する結果であった．

2010 年冬作チンゲンサイのカドミウム濃度は，汚泥肥料施用区が標準区に比べて有意に高かった(p＜0.05)が，カドミウム吸収量は両試験区間で同程度であった(p＞0.05)．これは，汚泥肥料施用区に比べて標準区の収量が 2 割程度多かった(Table 11)ためと考えられる．

2011 年冬作ホウレンソウにおいて，試験開始から初めて汚泥肥料施用区が標準区に比べてカドミウム濃度及び吸収量の両方で有意に高かった(p＜0.05)．この差は，跡地土壌の 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度においても認められており(Table 12)，ホウレンソウは土壌中の交換態のカドミウムを主体に吸収するが，無機結合態カドミウムなど他形態のカドミウムも吸収し，作物体のカドミウム吸収と土壌の 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度に相関があるという報告[27)]と一致する結果であった．

その後に実施した 2012 年夏作ニンジンでも，跡地土壌の 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度は引き続き汚泥肥料施用区

が有意に高かった（$p<0.05$）が，作物体のカドミウム濃度及び吸収量に試験区間で有意差は認められなかった（$p>0.05$）．これは，ニンジンのカドミウム吸収と土壌の 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度との相関は認められないという報告[28]と一致する結果であった．汚泥肥料施用区と標準区では，ホウレンソウが吸収可能な形態のカドミウムとニンジンが吸収可能な形態のカドミウムの濃度が異なるため，ホウレンソウとニンジンで異なる結果となった可能性が考えられる．

2012 年冬作ホウレンソウのカドミウム濃度は，汚泥肥料施用区が標準区に比べて有意に高かった（$p<0.05$）．これは， 2011 年冬作ホウレンソウと同様な結果であり，汚泥肥料施用区ではホウレンソウが吸収可能な形態のカドミウム濃度が標準区と比較して高い状態が 2011 年冬作以降続いていることが原因と考えられる．

2009 年及び 2012 年夏作ニンジンでは根部及び葉部ともにカドミウム濃度の有意差はなかった（$p>0.05$）が，2013 年夏作ニンジン葉部において，汚泥肥料施用区が標準区に比べて有意に高かった（$p<0.05$）．2013 年夏作の汚泥肥料施用区の作付け前及び跡地土壌の 1 mol/L 酢安（pH 7.0）-Cd 濃度についても標準区と比較して有意に高かった（$p<0.05$）（Table 8 及び 10）．これはニンジンのカドミウム吸収には，土壌の 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度との相関は認められない[27]が，土壌中の 1 mol/L 酢安（pH 7.0）-Cd 濃度との相関がある[16]という報告と一致する結果であった．跡地土壌の 1 mol/L 酢安（pH 7.0）-Cd 濃度において汚泥肥料施用区と標準区の差が大きくなる傾向で推移していることから（Fig.4），作物体のカドミウム濃度も同様の傾向となっていると考えられる．

作物体のカドミウム濃度及び吸収量については， 2011 年冬作以降は汚泥肥料施用区の方が常に高い傾向となっている（$p<0.05$）．この傾向は跡地土壌の 0.1 mol/L HCl-Cd 及び 1 mol/L 酢安（pH 7.0）-Cd 濃度とも一致した（Table 12 及び 13）．跡地土壌の pH 等の理化学性に顕著な差が認められないことから（Table 1 及び 5），標準区においては有機物の施用がない状態で連作していることが影響し作物体が吸収可能な形態のカドミウム量が減少していると考えられる．一方で，汚泥肥料施用区では汚泥肥料の連用施用によって作物体に吸収されるカドミウムのうち，土壌や大気等由来のカドミウムと比較して汚泥肥料由来のカドミウムの割合が増加する傾向となっていることが考えられる．

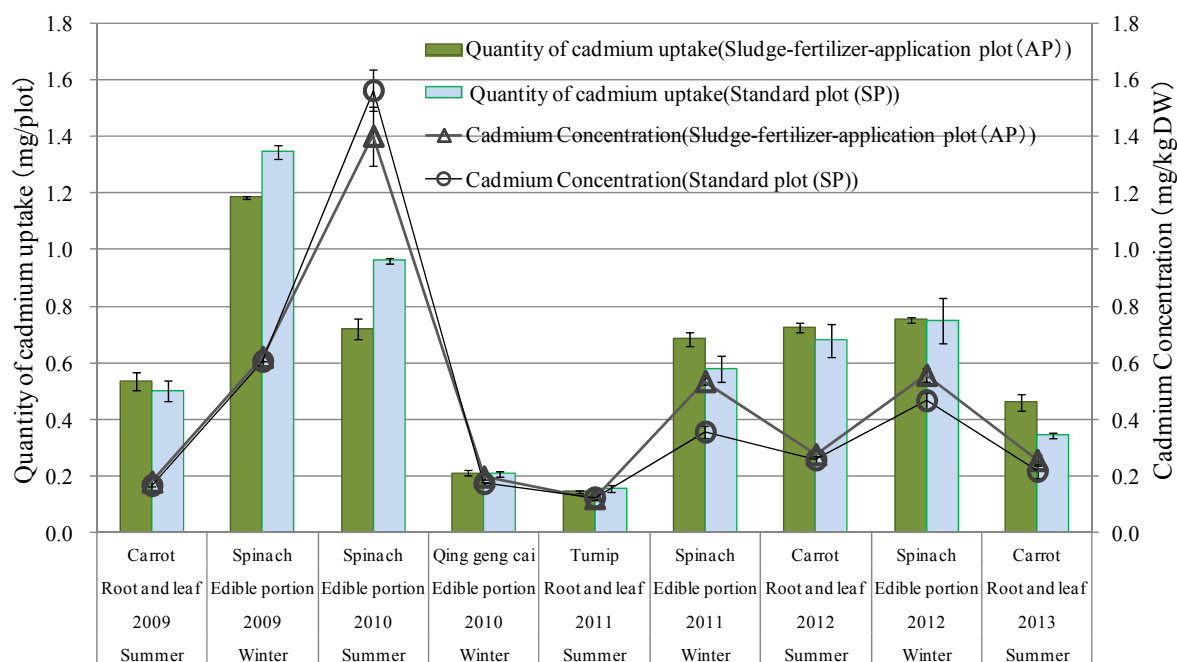



Fig. 6 Absorption and the amount of cadmium concentration of each crops in 2009~2013
(The error bar indicating the standard deviation)

Table 15 Absorption and the amount of cadmium concentration of each crops in 2009~2013

Year	Season	Test crops	Part	Cadmium Concentration[1] AP[2] (mg/kg)	Cadmium Concentration[1] SP[3] (mg/kg)	t-test	Quantity of cadmium uptake AP[2] (mg/plot)	Quantity of cadmium uptake SP[3] (mg/plot)	t-test
2009	Summer	Carrot	Root	0.12 (0.01)[4]	0.11 (0.02)	n.s.[5]	0.21 (0.02)	0.20 (0.03)	n.s.
			Leaf	0.24 (0.02)	0.22 (0.02)	n.s.	0.32 (0.02)	0.31 (0.01)	n.s.
			Total	-	-	-	0.54 (0.03)	0.50 (0.04)	n.s.
2009	Winter	Spinach	Edible portion	0.62 (0.01)	0.61 (0.02)	n.s.	1.18 (0.004)	1.34 (0.02)	signifi-cance
2010	Summer	Spinach	Edible portion	1.40 (0.10)	1.56 (0.07)	n.s.	0.72 (0.04)	0.96 (0.01)	signifi-cance
2010	Winter	Qing geng cai	Edible portion	0.20 (0.01)	0.17 (0.01)	signifi-cance[6]	0.21 (0.01)	0.21 (0.01)	n.s.
2011	Summer	Turnip	Root	0.08 (0.01)	0.08 (0.002)	n.s.	0.04 (0.003)	0.04 (0.00)	n.s.
			Leaf	0.16 (0.01)	0.17 (0.01)	n.s.	0.10 (0.01)	0.11 (0.01)	n.s.
			Total	-	-	-	0.15 (0.01)	0.16 (0.01)	n.s.
2011	Winter	Spinach	Edible portion	0.53 (0.01)	0.36 (0.02)	signifi-cance	0.68 (0.02)	0.58 (0.05)	signifi-cance
2012	Summer	Carrot	Root	0.24 (0.01)	0.23 (0.01)	n.s.	0.32 (0.01)	0.30 (0.02)	n.s.
			Leaf	0.31 (0.01)	0.29 (0.02)	n.s.	0.41 (0.005)	0.38 (0.04)	n.s.
			Total	-	-	-	0.73 (0.02)	0.68 (0.06)	n.s.
2012	Winter	Spinach	Edible portion	0.56 (0.02)	0.47 (0.03)	signifi-cance	0.75 (0.01)	0.75 (0.08)	n.s.
2013	Summer	Carrot	Root	0.18 (0.02)	0.15 (0.02)	n.s.	0.22 (0.02)	0.17 (0.004)	signifi-cance
			Leaf	0.33 (0.02)	0.28 (0.03)	signifi-cance	0.24 (0.01)	0.18 (0.01)	signifi-cance
			Total	−	−		0.46 (0.03)	0.34 (0.01)	signifi-cance
			The sum total	−	−		5.42 (0.07)	5.53 (0.13)	n.s.

1) Content in the drying soil
2) Sludge-fertilizer-application plot
3) Standard plot
4) Standard deviation (n = 4 (2×2) (repetition × number of samples))
5) It is no significantly different for processing examination section (t-test, 5 % of both sides levels of significance, n = 4 (2×2) (repetition × number of samples))
6) It is significantly different for processing examination section (t-test, 5 % of both sides levels of significance, n = 4 (2×2) (repetition × number of samples))

（7） カドミウム負荷量，持出し量及び蓄積量

各試験での肥料由来のカドミウム負荷量，作物体によるカドミウム持出し量，土壌へのカドミウム蓄積量及び蓄積濃度の推移は Table 16 のとおりである．施用肥料のカドミウム含有量に施用量を乗じて，土壌へのカドミウム負荷量とした．カドミウム持出し量は，収穫した作物体のカドミウム吸収量とした．施用肥料によるカドミウム負荷量と作物体によるカドミウム持出し量の差をカドミウム蓄積量とした．カドミウム蓄積量を試験区当たりの土壌量（作土の深さ 15 cm，土壌の仮比重 0.67 とし，試験区 4 ㎡当たりの土壌量を 400 kg とした）で除して，土壌へのカドミウム蓄積濃度とした．

カドミウム持出し量については，これまで実施した 9 作の試験の合計は，汚泥肥料施用区で 5.42 mg/試験区，標準区で 5.53 mg/試験区と同程度であり，有意差は認められなかった（$p > 0.05$）（有意差検定結果は，Table 15 カドミウム吸収量の総計を参照）．

汚泥肥料施用区では，各試験において，カドミウム負荷量と比較して持出し量が少ないことから土壌のカドミウム収支がプラスとなるため，汚泥肥料の連用によるカドミウム負荷量の増加に伴って土壌蓄積するカドミウムが高まる傾向であることが考えられる．過去 9 作の試験における汚泥肥料施用区のカドミウム負荷量は 47 mg/試験区（118 g/ha），カドミウム蓄積濃度（カドミウム蓄積量と試験区土壌量から算出した理論上の土壌中カドミウムの上昇濃度）は 0.105 mg/kg となった（Table 16）．

汚泥肥料施用区のカドミウム負荷量及び蓄積量と土壌中 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度の推移は Fig.7 のとおりである．土壌中 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度は試験開始時の 2009 年夏作から 2013 年夏作まで，ほぼ一定で推移しており，汚泥肥料の連用施用による有意な上昇又は下降傾向は認められなかった（$p > 0.05$）．しかし，カドミウム負荷量が 1 作当たり 5 mg/試験区（12 g/ha）以下であった 2009 年夏作から 2011 年夏作まで（Table 16）の推移を線形回帰分析したところ，回帰が有意となり（$p < 0.05$），下降傾向が認められた（Fig.7）．2011 年冬作以降にカドミウム負荷量を 1 作当たり 7 mg/試験区（18 g/ha）以上とした場合は，線形回帰分析(両側有意水準 5 %)では有意ではなく，下降傾向は認められなくなり（$p > 0.05$）一定で推移していた．今後，データ数を増やして推移を確認する必要があると考えられる．

他の試験で高分子凝集剤を使用した汚泥肥料を用い 5 年（5 作）以上の黒ボク土圃場での連用試験を実施し，土壌の pH を 6.0~6.7 に維持した状態で土壌中 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度の推移を確認した報告は見当たらない．類似の試験として黒ボク土に比べて腐植の少ない褐色森林土の圃場において水産系廃棄物由来堆肥を用い 5 年間 5 作の連用試験を実施した結果（カドミウム総負荷量は 91.1 g/ha，跡地土壌の pH は 6.0~6.7 の間で推移しており，本試験に近い条件となっている），跡地土壌の 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度は 0.15 mg/kg から 0.17 mg/kg にわずかに増加したことが報告されている[29]．

以上のことから，本試験で用いた土壌，し尿汚泥肥料及び作物等における連用施用においては，1 作当たり 7 mg/試験区（年間 14 mg/試験区（36 g/ha））よりカドミウム負荷量を多くした場合は，今後，跡地土壌の 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度が増加傾向となる可能性もあるため推移を確認する必要があると考えられる．一方，肥料由来のカドミウム負荷がない標準区及び汚泥肥料由来のカドミウム負荷量が 1 作当たり 5 mg/試験区以下の場合に，土壌中 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度が減少傾向（$p < 0.05$）となる理由としては，作物収穫による持出しの他，土壌中に負荷されたカドミウムは水平や下方移動により作土に留まらないものがあること[30~31]や，土壌や汚泥肥料中の有機物等と結合すること[32]等により 0.1mol /L 塩酸には不溶な形態として作土中に蓄積していることが考えられる．

Table 16　Change of the 2009~2013 year of the quantity of cadmium load by fertilizer[1], quantity of peculating due to the crops body[1], and quantity of cadmium accumulation to the soil[1]

Year	Season	Test crops	Sludge-fertilizer-application plot (AP) Quantity of cadmium load (mg/plot)	removal (mg/plot)	accumu-lation (mg/plot)	Concentration of cadmium accumulation (mg/kg)	Standard plot (SP) Quantity of cadmium load (mg/plot)	removal (mg/plot)	accumu-lation (mg/plot)	Concentration of cadmium accumulation (mg/kg)
2009	Summer	Carrot	4.84	0.54	4.30	0.011	0	0.50	-0.50	-0.001
2009	Winter	Spinach	4.40	1.18	3.22	0.008	0	1.34	-1.34	-0.003
2010	Summer	Spinach	3.30	0.72	2.58	0.006	0	0.96	-0.96	-0.002
2010	Winter	Qing geng cai	2.64	0.21	2.43	0.006	0	0.21	-0.21	-0.001
2011	Summer	Turnip	3.30	0.15	3.15	0.008	0	0.16	-0.16	0.000
2011	Winter	Spinach	7.04	0.68	6.35	0.016	0	0.58	-0.58	-0.001
2012	Summer	Carrot	7.28	0.73	6.55	0.016	0	0.68	-0.68	-0.002
2012	Winter	Spinach	7.28	0.75	6.53	0.016	0	0.75	-0.75	-0.002
2013	Summer	Carrot	7.28	0.46	6.82	0.017	0	0.34	-0.34	-0.001
		Total	47.36	5.42	41.93	0.105	0.00	5.53	-5.53	-0.014

1) It show every test plot.

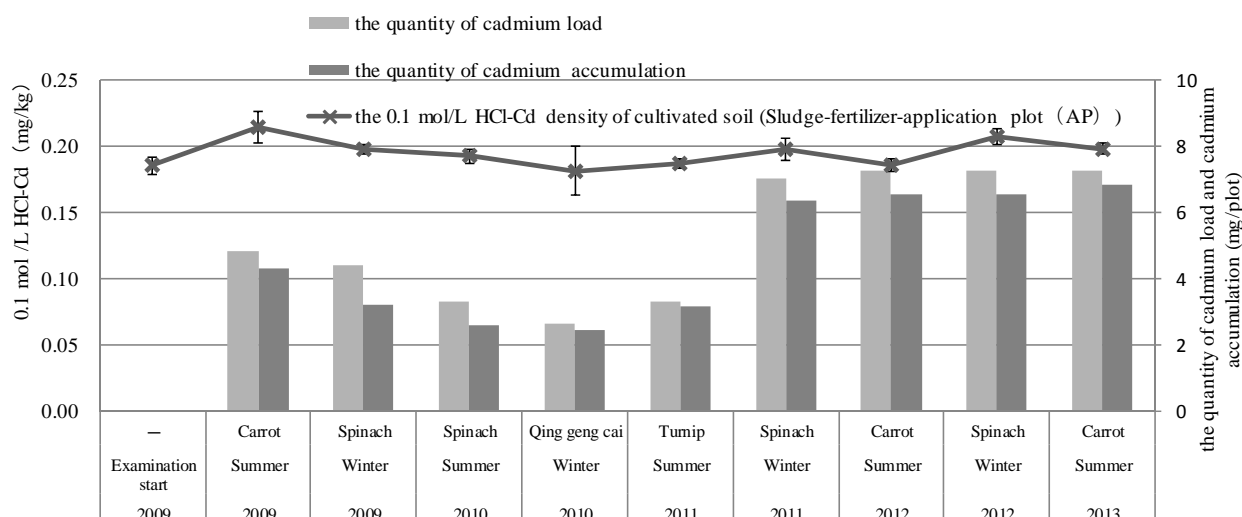



Fig. 7　Changes of the 2009~2013 year of the quantity of cadmium load by fertilizer, quantity of cadmium accumulation to the soil, and the 0.1 mol/L HCl-Cd density

5. まとめ

肥料の有効性及び安全の確保に必要な課題に関する調査研究として，汚泥肥料の連用施用試験を2009年より引き続き行っており，汚泥肥料施用区及び汚泥肥料無施用の標準区の2試験区に，2012年冬作としてホウレンソウを，2013年夏作としてニンジンを栽培し，土壌中のカドミウム濃度の変化及び作物体へのカドミウム吸収量を確認した．その結果，跡地土壌の0.1 mol/L HCl−Cd濃度及び1 mol/L酢安(pH 7.0)-Cd濃度は汚泥肥料施用区が標準区に比べて有意に高かった($p<0.05$)．作物体のカドミウム濃度は2012年冬作ホウレンソウ及び2013年夏作ニンジン葉部においては，汚泥肥料施用区が標準区に比べて有意に高かった($p<0.05$)が，

2013 年夏作ニンジン根部では，両試験区に有意差は認められなかった（$p > 0.05$）. 作物体のカドミウム吸収量は 2012 年冬作ホウレンソウでは両試験区に有意差は認められなかった（$p > 0.05$）が，2013 年夏作ニンジンにおいては葉部及び根部ともに汚泥肥料施用区が標準区に比べて有意に高かった（$p < 0.05$）.

試験開始時の 2009 年夏作からの跡地土壌の 0.1 mol/L HCl−Cd 濃度の推移について整理したところ，汚泥肥料施用区と標準区で差がない状態が続いていたが，2011 年冬作ホウレンソウ以降は今回の試験においても，汚泥肥料施用区が標準区に比べて有意に高かった（$p < 0.05$）. 跡地土壌の 0.1 mol/L HCl−Cd 及び 1 mol/L 酢安（pH 7.0）-Cd 濃度の推移は，標準区では有意な下降傾向が認められた（$p < 0.05$）が汚泥肥料施用区はほぼ一定で推移しており（$p > 0.05$），汚泥肥料の連用施用による有意な上昇又は下降傾向は認められなかった. しかし，汚泥肥料施用区のカドミウム負荷量が 1 作当たり 5 mg/試験区以下（12 g/ha）であった 2011 年夏作までは跡地土壌の 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度の有意な下降傾向が認められていた（$p < 0.05$）が，カドミウム負荷量を 1 作当たり 7 mg/試験区（18 g/ha）程度とした 2011 年冬作以降は，下降傾向が認められなくなっていることから，データ数を増やし今後の推移を確認する必要があると考えられる. また，汚泥肥料中の濃度が比較的高く，カドミウムの同族元素である亜鉛については，汚泥肥料施用区において 2011 年冬作以降，跡地土壌の 1 mol/L 酢安（pH 7.0）-Zn の上昇傾向が認められた（$p < 0.05$）.

汚泥肥料のカドミウム含有許容値付近（約 5 mg/kg）のし尿汚泥肥料を，一般的な 1 作当たりの施用量 500 kg/10 a（現物）以下を施用し，年 2 作（年間施用量 1 t /10 a）の試験を 9 作行った. これまでのところ，汚泥肥料を施用していない標準区の結果との比較から，汚泥肥料由来のカドミウムは作土中に残留し，作物に吸収されている可能性が考えられるが，土壌中の 0.1 mol/L HCl−Cd 濃度はほぼ一定で推移しており，作物中のカドミウム濃度についても Codex 基準値に比べて低い濃度で推移している. 本試験条件においてカドミウム負荷量年間約 14 mg/試験区（36 g/ha）での 5 年間程度の汚泥肥料連用施用であれば，カドミウムの土壌蓄積量や作物体への吸収量が増大する可能性は低いと考えられる. しかし，更に長期に連用を継続した場合や，汚泥肥料施用量を増加させた場合又は黒ボク土以外の種類の土壌の場合における汚泥肥料由来のカドミウムの土壌中への蓄積及び作物体への吸収については知見を集積する必要があると考えられる.

文　献

1） 農林水産省告示：肥料取締法に基づき普通肥料の公定規格を定める等の件，昭和 61 年 2 月 22 日，農林水産省告示第 284 号，最終改正平成 26 年 9 月 1 日，農林水産省告示第 1146 号 (2014)

2） 舟津正人，山西正将，阿部文浩：カドミウムの土壌蓄積及び作物吸収における汚泥肥料連用の影響(続報)，肥料研究報告，**5**，60~68 (2012)

3） 廣井利明，惠智正宏，山西正将，阿部文浩：カドミウムの土壌蓄積及び作物吸収における汚泥肥料連用の影響（続報），肥料研究報告，**6**，43~60，(2013)

4） 独立行政法人農林水産消費安全技術センター（FAMIC）：肥料等試験法
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html>

5） 農林水産省ホームページ：都道府県施肥基準等　主要農作物施肥基準，埼玉県
<http://www.maff.go.jp/j/seisan/kankyo/hozen_type/h_sehi_kizyun/sai05.html>

6）農林水産省　消費・安全局　農産安全管理課　肥料企画班：汚泥肥料の施用に係る指導実態等に関するアンケート結果（抜粋）(2008)
< http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/kome/k_hiryo/odei_hiryo/pdf/03_data1.pdf>

7） 千葉県 農林水産技術推進会議農林部会：肥料価格高騰に伴う土壌管理・施肥適正化指導指針 平成 20

年 9 月, p.20 (2008)
< http://www.pref.chiba.lg.jp/ninaite/network/h21-fukyuu/documents/kakakukoutou.pdf>

8） 栃木県 農作物施肥基準－環境と調和のとれた土づくり・施肥設計の手引き 平成 18 年 1 月, p.110 （2006） < http://www.pref.tochigi.lg.jp/g04/work/nougyou/keiei-gijyutsu/sehikijun.html >

9）群馬県 作物別施肥基準及び土壌診断基準 おでい肥料と土壌の重金属
<http://www.aic.pref.gunma.jp/agricultural/management/technology/soil/01/index.html>

10) 有機性汚泥の緑農地利用委員会：有機性汚泥の緑農地利用, 183, 博友社, 東京(1991)

11) 農林水産省：地力増進基本指針, 平成 20 年 10 月 16 日
<http://www.maff.go.jp/j/seisan/kankyo/hozen_type/h_dozyo/pdf/chi4.pdf>

12） Perkin Elmer 社：マイクロ波分解装置取扱説明書, 分解メソッド集, ホウレンソウ

13） 財団法人日本土壌協会：土壌, 水質及び植物体分析法, 東京（2001）

14） 農林省省令：農用地土壌汚染対策地域の指定要件に係るカドミウムの量の検定の方法を定める省令, 昭和 46 年 6 月 24 日農林省令第 47 号, 最終改正平成 24 年 8 月 6 日環境省令第 22 号(2012)

15） 日本土壌肥料学会監修：土壌環境分析法, p.215~219, 博友社, 東京（1997）

16) 戸上和樹, 吉住佳与, 工藤一晃, 青木和彦, 三浦憲蔵：Bland-Altman 分析による土壌 pH を考慮した野菜可食部カドミウム濃度予測のための土壌抽出法の検証, 日本土壌肥料学雑誌, **83**(5), 564~573 （2012）

17) 農林水産技術会議事務局：農林水産省委託プロジェクト生産・流通・加工工程における体系的な危害要因の特性解明とリスク低減技術の開発, 技術情報集, p.47 (2013)

18) 有機性汚泥の緑農地利用委員会：有機性汚泥の緑農地利用, p.106, 博友社, 東京(1991)

19) 農林水産省, 独立行政法人 農業環境技術研究所：ダイズのカドミウム吸収抑制のための技術確立マニュアル, 平成 19 年 4 月, p.4 (1991)

20) 有機性汚泥の緑農地利用委員会：有機性汚泥の緑農地利用, p.119, 博友社, 東京 (1991)

21) 海老原武久, 山田要, 松村尉：汚泥の農用地への利用に関する研究 第Ⅱ報 汚泥連用が土壌・作物に及ぼす影響, 群馬県農業試験場報告, **22**, 49~58 (1982)

22) 農林水産技術会議事務局：有機性汚泥の環境保全的評価及び農林業への利用に関する研究, 研究成果, p.231 (1989)

23) 伊藤淳次, 田村明長, 山根忠昭：し尿処理汚泥の連用が作物および土壌に及ぼす影響, 島根農試報告, **25**, 83~100 (1991)

24）佐野健人・松本栄一・中村憲治：ホウレンソウのカドミウム吸収能に関する品種間差異のほ場における検証（2）, 農用地土壌のカドミウムによる農作物汚染リスク予測技術の開発に関する研究成果集（H17.12）, 84~87 （2005）

25） 農林水産省ホームページ：コーデックス委員会が策定した国際基準値
<http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/kome/k_cd/kizyunti/>

26) 伊藤純雄, 菊地 直, 加藤直人：ホウレンソウ類のカドミウム吸収に関わる品種間差の生育条件による変動とそれに基づく吸収程度の相対的序列の推定, 中央農研研究報告, **14**, 1~15 （2010）

27) 砂川 匡, 袖垣—也, 安田雅晴, 沢野定憲：ホウレンソウのカドミウム吸収特性の解明と含量予測技術の開発, 岐阜県農業技術センター研究報告, **8**, 26~33 (2008)

28) 八槇 敦：各種抽出法による土壌のカドミウム含量と野菜のカドミウム吸収との関係, 日本土壌肥料学会講演要旨集, **55**, 283 (2009)

29) 農林水産技術会議事務局：農林水産生態系における有害化学物質の総合管理技術の開発, 研究成果,

471, 210~2162009)

30) 有機性汚泥の緑農地利用委員会：有機性汚泥の緑農地利用, 124~127, 博友社, 東京 (1991)

31) 岡本 保：下水汚泥の農業利用上の留意点, 再生と利用, **34**(127), 74~81 (2010)

32) 独立行政法人 農業環境技術研究所：農作物中のカドミウム低減対策技術集, 49 (2011)
< http://www.niaes.affrc.go.jp/techdoc/cadmium_control.pdf>

Effect of Continuous Application of Sludge Fertilizer on Cadmium Absorption of the Crop and Accumulation of Cadmium in the Soil (Continued Report)

Toshiaki HIROI[1], Souichi IGARASHI[2], Masahiro ECHI[3], Yoshimi HASHIMOTO[1] and Fumihiro ABE[4]

[1] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department
[2] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department
(Now) Fukuoka Regional Center
[3] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department
(Now) Kobe Regional Center
[4] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department
(Now) Sendai Regional Center

This research is monitoring the change of the cadmium which was dissolved with 0.1 mol/L hydrochloric acid (acid-solubility-Cd) and pH 7.0, 1 mol/L ammonium acetate solution (exchangeable-Cd) from the soil. We have investigated the cadmium absorption by the crop since 2009. Test field is the upland fields derived from Andosol, and the used fertilizer is sludge fertilizer and chemical fertilizer. We cultivated the carrot in summer (2013), and the spinach in winter (2012). Those crops were cultivated in the standard plot (SP) and the sludge-fertilizer-application plot (AP). The SP was used reagents and fused magnesium phosphate. The AP was used the sludge fertilizer of 500 kg/10a (fresh weight). Other ingredients were used reagents and fused magnesium phosphate. The amount of nitrogen, phosphorus and potassium applied to each plot was designed on the basis of fertilization standard showed by Saitama prefecture Web-site. Total cadmium amount in the crop, acid-solubility-Cd and exchangeable-Cd in cultivated soil were measured by an inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). As a result, acid-solubility-Cd and exchangeable-Cd in the AP were indicated significantly highly content for the SP. This result has been obtained from the 2011 winter-crop spinach. Although acid-solubility-Cd and exchangeable-Cd content in the SP soil from 2009 summer to 2013 summer showed significantly decreasing trend in the SP, the Cd content in the AP soil did not show significantly increasing or decreasing trend in the AP by the continuous application of sludge fertilizer.

Key words sludge fertilizer, continuous application, cadmium

(Research Report of Fertilizer, **7**, 43~67, 2014)

7　2013 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析

矢野愛子 [1], 千田正樹 [2], 坂東悦子 [2], 鈴木知華 [3], 宮下靖司 [4],
稲葉茂幸 [5], 豊留夏紀 [6], 白井裕治 [7], 上沢正志 [8]

キーワード　外部精度管理, 化成肥料, 鉱さいけい酸質肥料, ISO/IEC 17043, ISO/IEC 17025, *z* スコア

1. はじめに

国際的な適合性評価の動きが進む中, 我が国においても ISO/IEC 17025（JIS Q 17025）[1)]の要求事項を参考にした試験成績の信頼性確保についての考え方が重視されている. その要求事項には, 他機関との試験成績の整合性確認及び外部機関による試験成績の信頼性の確保が必須となっており, 試験所は共通試料による試験室間の共同試験に参加して外部精度管理を実施する等, 試験の信頼性確保に努めている.

肥料生産事業場の品質管理室, 肥料検査機関の試験所等においても, 試験成績の信頼性維持及び分析技術の向上のために管理用試料又は肥料認証標準物質[2)]による内部精度管理が日常的になりつつある. 独立行政法人農林水産消費安全技術センター（FAMIC）においても立入検査で収去した肥料の主成分及び有害成分の調査分析は不可欠であり, その試験法には信頼性の確保が求められる.

これまで外部精度管理としての共通試料による肥料の共同試験は, 試験成績数が増加することで解析精度の向上が図れることから, 2006 年度より全国 6 ヵ所の肥料品質保全協議会に属する試験所等を中心に全国共通の試料を用いた共同試験を実施している. 均質性試験及び共同試験成績については ISO/IEC 17043（JIS Q 17043）[3)]を参考に解析し, 2013 年度は化成肥料及び鉱さいけい酸質肥料について全国共通試料を調製し, 共同試験を実施したのでその結果を報告する.

2. 材料及び方法

1） 共同試験用試料調製

化成肥料は, 粉砕して目開き 500 µm の網ふるいを全通させ, 品質の安定を図るため約 3 ヶ月間常温で保管

[1] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部 （現）福岡センター
[2] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター札幌センター
[3] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター
[4] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター名古屋センター
（現）農林水産省東海農政局消費・安全部
[5] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター
[6] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター福岡センター
[7] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部
[8] 公益財団法人日本肥糧検定協会

した．その後，試料をよく混合し，のし餅状に拡げて短冊状に 9 等分し，1～9 の区分番号を付して容器に移した．この中から表 1 の混合操作表の組合せに従い 4 区分を抽出し，よく混合したのち 4 等分して元の容器に戻した．この操作を 7 回繰り返した後，1～9 の各区分の容器から一定量ずつ採取し，よく混合した後，1 袋当たり約 200g 入りの試料 220 個を調製し，ポリエチレン製袋で密封して配付時まで常温保管した．

鉱さいけい酸質肥料は，粉砕して目開き 212 µm の網ふるいを全通させたのち，試料をよく混合し，のし餅状に拡げて短冊状に 9 等分し，1～9 の区分番号を付して容器に移した．この中から表 1 の混合操作表の組合せに従い 4 区分を抽出し，よく混合したのち 4 等分して元の容器に戻した．この操作を 7 回繰り返した後，1～9 の各区分の容器から一定量ずつ採取し，よく混合した後，1 袋当たり約 180g 入りの試料 165 個を調製し，ポリエチレン製袋で密封して配付時まで常温保管した．

表1　混合操作表

混合回数	1	2	3	4	5	6	7
区分番号	2	1	3	5	2	3	1
	5	3	6	7	4	4	2
	6	7	7	8	6	5	4
	8	9	8	9	7	9	8

2） 均質性確認試験

IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル[4)]の均質性試験に従い，2.1）で調製した共同試験用試料から 10 試料ずつ抜き取り均質性確認用試料とした．化成肥料についてはく溶性りん酸（C-P_2O_5）及びく溶性マンガン（C-MnO），鉱さいけい酸質肥料についてはく溶性苦土（C-MgO）を各均質性確認用試料につき 2 点併行で試験して均質性確認試験の成績とした．

3） 配付

試料番号を付した試料，実施要領及び分析成績報告書を参加試験室に送付した．2013 年度，化成肥料は 143 試験室，鉱さいけい酸質肥料は 82 試験室が参加した．

3．共同試験成績の試験項目及び試験方法

1） 試験項目

化成肥料については，水分（Mois），アンモニア性窒素（A-N），く溶性りん酸（C-P_2O_5），水溶性りん酸（W-P_2O_5），水溶性加里（W-K_2O），く溶性苦土（C-MgO），水溶性苦土（W-MgO），く溶性マンガン（C-MnO），く溶性ほう素（C-B_2O_3），ひ素全量（T-As）及びカドミウム全量（T-Cd）の 11 項目を試験項目とした．また，鉱さいけい酸質肥料については，可溶性けい酸（S-SiO_2），アルカリ分（AL）及びく溶性苦土（C-MgO）の 3 項目を試験項目とした．

2） 試験方法

肥料分析法（1992 年版）[5)]を次のとおり例示した．なお，その他の試験方法を採用した試験室には，その方法の概要の報告を求めた．

（1） 水分（Mois）は，肥料分析法 3.1.1（加熱減量法）.C.1）により定量．但し，揮発物の補正は行わない．

（2） アンモニア性窒素（A-N）は，肥料分析法 4.1.2.1（蒸留法）.C.1）により試料溶液を調製，同項.D により定量．

（3） く溶性りん酸（C-P_2O_5）は，肥料分析法 4.2.1.C.d により試料溶液を調製，4.2.3（バナドモリブデン酸アンモニウム法）.E.c により定量．

（4） 水溶性りん酸（W-P_2O_5）は，肥料分析法 4.2.1.C.b により試料溶液を調製，4.2.3（バナドモリブデン酸アンモニウム法）.E.a により定量．

（5） 水溶性加里（W-K_2O）は，肥料分析法 4.3.1.C.b.2）により試料溶液を調製，4.3.3（フレーム光度法または原子吸光測光法）.E により定量．なお，当該肥料は硫酸加里苦土を含有している．

（6） く溶性苦土（C-MgO）は，肥料分析法 4.2.1.C.d により試料溶液を調製，4.6.1（EDTA 法）.D.b により定量．又は，同様の方法で試料溶液を調製，4.6.2（原子吸光測光法）.E により定量．なお，当該肥料はマンガンを含有している．

（7） 水溶性苦土（W-MgO）は，肥料分析法 4.6.1.C.b により試料溶液を調製，4.6.2（原子吸光測光法）.E により定量．

（8） く溶性マンガン（C-MnO）は，肥料分析法 4.2.1.C.d により試料溶液を調製，4.7.3（原子吸光測光法）.E により定量．

（9） く溶性ほう素（C-B_2O_3）は，肥料分析法 4.2.1.C.d により試料溶液を調製，4.8.3（アゾメチン H 法）.E.（付記）2.により定量．

（10） ひ素全量（T-As）は，肥料分析法 5.24.1（ジエチルジチオカルバミン酸銀法）.D.a.1）により試料溶液を調製，同項.E により定量．又は，同様の方法で試料溶液を調製，5.24.2（原子吸光測光法）.E により定量．

（11） カドミウム全量（T-Cd）は，肥料分析法 5.6.1（原子吸光測光法）.D.a.1）（王水分解）により試料溶液を調製，同項 E.a により定量．又は，同様の方法で試料溶液を調製，5.19.1.E.（溶媒抽出法）により定量．

（12） 可溶性けい酸（S-SiO_2）は，肥料分析法 4.4.1.B.b により試料溶液を調製，4.4.3（フッ化カリウム法）.D により定量．

（13） アルカリ分（AL）は，肥料分析法 4.5.1.1.C.b により試料溶液を調製，4.5.2.2（エチレンジアミン四酢酸塩法（以下「EDTA 法」という）.D により定量．

又は，同様の方法で試料溶液を調製，可溶性石灰（S-CaO）（肥料分析法 4.5.1.2.E）及び可溶性苦土（S-MgO）（肥料分析法 4.6.2.E）を測定，肥料分析法 4.5.2.3（原子吸光測光法）.E により算出．なお，当該肥料はマンガンを含有している．

（14） く溶性苦土（C-MgO）は，肥料分析法 4.2.1.C.d により試料溶液を調製，4.6.1（EDTA 法）.D.b により定量．又は，同様の方法で試料溶液を調製，4.6.2（原子吸光測光法）.E により定量．なお，当該肥料はマンガンを含有している．

4．統計解析方法及び試験成績の評価方法

1） 報告された試験成績の評価

（1） ロバスト法による z スコアの求め方

まず，全体の値の中央値（Median）を求めた．次に，上四分位数及び下四分位数を求め，(a) 式により四分位範囲（IQR）を算出した．

IQR＝下四分位数－上四分位数 ・・・(a)

ロバスト標準偏差(NIQR)を(b)式により算出した. 正規分布の場合, NIQRと標準偏差は一致する.

NIQR＝ IQR×0.7413 ・・・(b)

z スコア(z)を(c)式により算出した. *z* スコアは, 各試験室の試験成績(x_i)の Median からの隔たり度合いを示す指標である.

z＝ (x_i－Median)／NIQR ・・・(c)

(2) zスコアによる評価

データの解析手法として, ISO/IEC 17043 (JIS Q 17043)[3]を用い, 各試験室の試験成績のzスコアより次のように評価を行った.

|z|≦2 ・・・ 満足
2＜|z|＜3 ・・・ 疑わしい
|z|≧3 ・・・ 不満足

2) 試験成績全体を評価する統計量

各成分の報告された試験成績全体を評価するため, 次の統計量を求めた.

(1) 参加試験室数(データ数: N).
(2) *z* スコアによる評価が|z|≦2(満足), 2<|z|<3(疑わしい)及び|z|≧3(不満足)となった試験室数及びその割合(%).
(3) 外れ値を棄却しない全データの平均値(Mean).
(4) 全体の値の中央値(Median).
(5) NIQRを標準偏差とみなしたMedianの拡張不確かさ($U_{95\%}$)(包含係数:k =2)を(d)式により算出.

$U_{95\%}$ = 2×NIQR／$\sqrt{\mathrm{N}}$ ・・・(d)

(6) 全データの標準偏差(s).
(7) ロバスト標準偏差(NIQR)を(b)式により算出した. 正規分布の場合, NIQRはSDと一致する.
(8) Horwitz 修正式[6～8]((e)～(g)式)より, 平均的な室間再現標準偏差(Horwitz’ SD: HSD)を算出した. なお, Cは各成分の含有量の割合で1 %の場合は0.01という値になる.

HSD = 0.01×$C^{0.5}$ (0.138＜C) ・・・(e)
HSD = 0.02×$C^{0.8495}$ (1.2×10^{-7}≦C≦0.138) ・・・(f)
HSD = 0.22×C (C＜1.2×10^{-7}) ・・・(g)

（9） RSD_{rob}は，ロバスト相対標準偏差の表現であり，（h）式により算出した．

$$RSD_{rob}(\%) = (NIQR／Median)\times 100 \quad \cdots (h)$$

（10） $HorRat_{rob}$は，ロバスト標準偏差から求めた HorRat 値の表現であり，（i）式により算出した．HorRat 値は，共同試験で得られた室間再現相対標準偏差が，過去の実験に基づく室間再現相対標準偏差の予測値に比べてどの程度かを確認する指標である．AOAC のガイドライン[9]では，0.5＜HorRat 値≦2 を許容範囲としている．

$$HorRat_{rob} = NIQR／HSD \quad \cdots (i)$$

5. 結果及び考察

1） 共同試験用試料の均質性確認

均質性試験の成績及び繰返し 2 回×10 試料の一元配置による分散分析から得られた統計量を表 2 に示した．いずれの試料においても，分散比が F 境界値を下回ったことから，有意水準 5 %において試料間に有意な差は認められなかった．また，併行相対標準偏差 RSD_r及び併行精度を含む試料間相対標準偏差 RSD_{b+r}はそれぞれ 0.6 %～2.2 %であり，全ての種類の分析用試料は均質であることを確認した．

表 2 均質性確認試験の結果

肥料の種類	分析成分	試料数	平均値[1] (%)[2]	s_r[3] (%)[2]	RSD_r[4] (%)	s_{bb}[5] (%)[2]	s_{b+r}[6] (%)[2]	RSD_{b+r}[7] (%)	F値[8)9)]
化成肥料	$C\text{-}P_2O_5$	10	20.76	0.12	0.6	0.10	0.15	0.7	2.48
	C-MnO	10	0.519	0.011	2.2	0	0.011	2.2	0.58
鉱さいけい酸質肥料	C-MgO	10	3.76	0.02	0.6	0.01	0.02	0.6	1.23

1）総平均定量値（試料数×2点併行分析）
2）質量分率
3）併行標準偏差
4）併行相対標準偏差
5）試料間標準偏差
6）併行精度を含む試料間標準偏差 $s_{b+r} = \sqrt{s_{bb}^2 + s_r^2}$
7）併行精度を含む試料間相対標準偏差
8）一元配置分散分析により算出された分散比
9）F 限界値：F (9,10:0.05)=3.02

2） 試験成績の解析結果

4.2）（1）～（2）の試験室数及び z スコアで評価された各試験室数及びその割合を表 3 に示した．各成分の試験成績で「満足」との評価を受けた試験室の割合は，化成肥料中の A-N が 100 %と最も高く，化成肥料中の C-MnO が 77 %と最も低い割合を示した．一方，「不満足」と評価を受けた試験室の割合は，化成肥料では T-Cd の 14 %，鉱さいけい酸質肥料中では C-MgO の 13 %がそれぞれ最も高い結果であった．

4.2）（3）～（10）で求めた統計量を表 4 に示した．多くの成分で全体の Mean は Median とほぼ一致したが，一部で Mean と Median の差が大きい項目もみられ，外れ値の影響を若干受けていることが推定された．また，全体

の標準偏差 SD は，ロバスト法によって得られた NIQR と比較して基本的に大きな値を示し，外れ値の影響を受けていた．このことから，NIQR を標準偏差とみなして Median との関係を図 1 に示し，Horwitz 修正式から得られた HSD，HSD×0.5 及び HSD×2 を同図に表示した．

2006～2013 年度に実施した試験項目の Median，NIQR，RSD_{rob} 及び $HorRat_{rob}$ 等について，化成肥料は表 5-1 に，鉱さいけい酸質肥料は表 5-2 に示した．また，本年度 7 試験室以上報告のあった試験方法別の Median，NIQR，RSD_{rob}，$HorRat_{rob}$ 及び HSD を表 6 に示した．

表3 zスコアによる試験成績の評価

試験項目	参加試験室数	$\|z\|≦2$ [1]		$2<\|z\|<3$ [2]		$3≦\|z\|$ [3]	
		試験室数	割合 (%)	試験室数	割合 (%)	試験室数	割合 (%)
（化成肥料）							
Mois	136	135	99	1	1	0	0
A-N	136	136	100	0	0	0	0
C-P_2O_5	129	108	84	7	5	14	11
W-P_2O_5	134	120	90	9	7	5	4
W-K_2O	132	117	89	8	6	7	5
C-MgO	129	111	86	6	5	12	9
W-MgO	120	119	99	1	1	0	0
C-MnO	115	89	77	14	12	12	10
C-B_2O_3	104	93	89	4	4	7	7
T-As	52	47	90	3	6	2	4
T-Cd	65	53	82	3	5	9	14
（鉱さいけい酸質肥料）							
S-SiO_2	60	53	88	4	7	3	5
AL	78	69	88	6	8	3	4
S-CaO	61	53	87	7	11	1	2
S-MgO	61	53	87	3	5	5	8
C-MgO	79	67	85	2	3	10	13

1） zスコアによる評価が満足（$|z|≦2$）となった試験室数及びその割合（%）

2） zスコアによる評価が疑わしい（$2<|z|<3$）となった試験室数及びその割合（%）

3） zスコアによる評価が不満足（$3≦|z|$）となった試験室数及びその割合（%）

表4　共同試験成績の統計量

試験項目	Mean[1)] (%, mg/kg)[9)]	Median[2)] (%, mg/kg)[9)]	$U_{95\%}$[3)] (%, mg/kg)[9)]	s[4)] (%, mg/kg)[9)]	NIQR[5)] (%, mg/kg)[9)]	HSD[6)] (%, mg/kg)[9)]	RSD_{rob}[7)] (%)	$HorRat_{rob}$[8)]
（化成肥料）								
Mois	2.88	2.93	0.14	0.70	0.84	0.10	28.7	8.42
A-N	9.87	9.92	0.13	0.55	0.74	0.28	7.5	2.63
C-P_2O_5	20.64	20.60	0.04	1.21	0.20	0.45	1.0	0.44
W-P_2O_5	12.05	12.09	0.07	0.53	0.38	0.33	3.1	1.14
W-K_2O	11.70	11.74	0.06	0.62	0.35	0.32	3.0	1.08
C-MgO	6.19	6.18	0.02	0.51	0.13	0.19	2.2	0.71
W-MgO	3.75	3.79	0.12	0.60	0.68	0.12	18.0	5.50
C-MnO	0.517	0.513	0.003	0.067	0.014	0.023	2.8	0.64
C-B_2O_3	0.248	0.246	0.003	0.033	0.014	0.012	5.5	1.11
T-As	10.22	10.31	0.27	1.16	0.99	1.16	9.6	0.85
T-Cd	3.07	3.02	0.06	0.46	0.24	0.41	8.1	0.60
（鉱さいけい酸質肥料）								
S-SiO_2	35.15	35.18	0.14	0.71	0.55	0.59	1.6	0.92
AL	36.78	36.79	0.21	1.23	0.95	0.61	2.6	1.56
S-CaO	30.19	30.09	0.18	0.90	0.70	0.55	2.3	1.27
S-MgO	4.59	4.62	0.04	0.29	0.16	0.15	3.4	1.06
C-MgO	3.88	3.77	0.03	0.67	0.14	0.12	3.6	1.11

1）全体の平均値
2）全体の中央値
3）全体の中央値の不確かさ
4）全体の標準偏差
5）ロバスト標準偏差
6）Horwitz修正式より得られた平均的な室間再現標準偏差
7）ロバスト相対標準偏差
8）ロバスト標準偏差から求めたHorRat値
9）T-As及びT-Cdはmg/kg，その他の成分は%（質量分率）

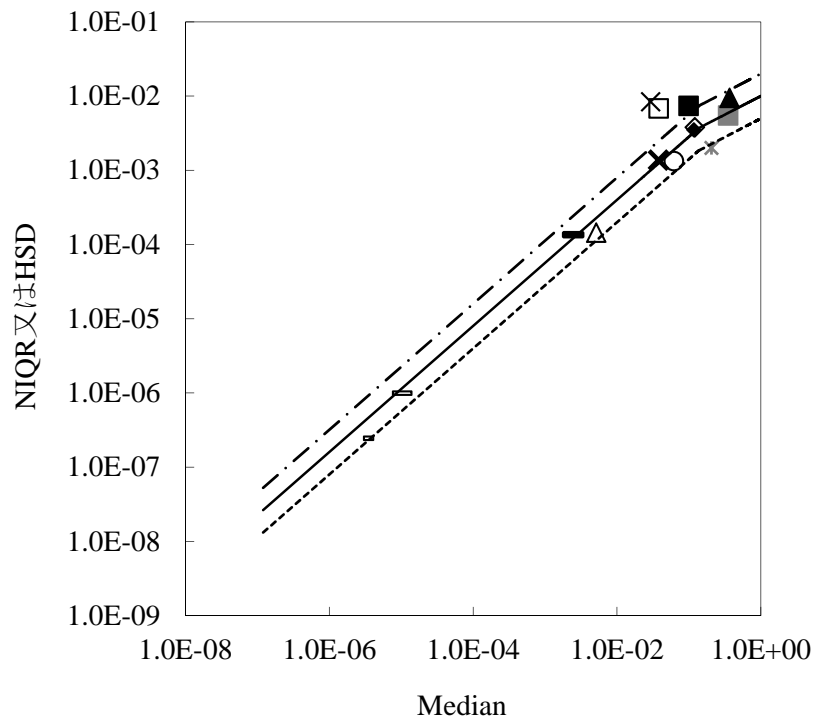



図1 共同試験のNIQRとHorwitz修正式によるHSDの関係

× Mois （化成肥料）

■ A-N （化成肥料）

✻ C-P2O5 （化成肥料）

◇ W-P2O5 （化成肥料）

◆ W-K2O （化成肥料）

○ C-MgO （化成肥料）

□ W-MgO （化成肥料）

△ C-MnO （化成肥料）

▬ C-B2O3 （化成肥料）

▭ T-As （化成肥料）

▪ T-Cd （化成肥料）

■ S-SiO2 （鉱さいけい酸質肥料）

▲ AL （鉱さいけい酸質肥料）

✖ C-MgO （鉱さいけい酸質肥料）

——— 累乗 (Horwitz修正式)

------- 累乗 (Horwitz修正式×0.5)

—・— 累乗 (Horwitz修正式×2)

表5-1 複合肥料における2006～2013年度の共同試験成績の統計量

試験項目	実施年	試験項目に由来する主な原料名	参加試験室数	Median[1)] (%,mg/kg)[6)]	NIQR[2)] (%,mg/kg)[6)]	RSD_{rob}[3)] (%)	$HorRat_{rob}$[4)]	HSD[5)] (%,mg/kg)[6)]
Mois	2006		147	1.70	0.30	17.7	4.78	0.06
	2007		146	4.99	0.35	7.0	2.21	0.16
	2008		145	2.87	0.24	8.5	2.50	0.10
	2009		145	3.53	0.15	4.2	1.27	0.12
	2010		143	1.58	0.41	26.0	6.97	0.06
	2011		137	1.00	0.12	12.0	3.00	0.04
	2013		136	2.93	0.84	28.7	8.42	0.10
T-N	2006	尿素	158	14.60	0.13	0.9	0.33	0.38
	2007	有機質肥料	145	8.74	0.07	0.8	0.26	0.25
	2010	尿素	140	14.11	0.11	0.8	0.30	0.38
A-N	2006	硫酸アンモニア，りん酸アンモニア	150	11.46	0.10	0.9	0.33	0.32
	2007	硫酸アンモニア	143	6.20	0.09	1.4	0.47	0.19
	2008	硫酸アンモニア，りん酸アンモニア	147	12.56	0.16	1.2	0.45	0.34
	2009	硝酸アンモニア，硝酸アンモニア石灰肥料	144	5.56	0.07	1.3	0.43	0.17
	2010	硫酸アンモニア，りん酸アンモニア	128	11.53	0.18	1.6	0.56	0.32
	2011	硫酸アンモニア，りん酸アンモニア	138	13.49	0.18	1.3	0.49	0.36
	2012		130	2.39	0.04	1.9	0.53	0.08
	2013	硫酸アンモニア，りん酸アンモニア	136	9.92	0.74	7.5	2.63	0.28
N-N	2009	硝酸アンモニア，硝酸アンモニア石灰肥料	123	3.62	0.11	3.2	0.96	0.12
	2012		115	2.17	0.10	4.8	1.34	0.08
T-P_2O_5	2007	有機質肥料	140	10.35	0.10	0.9	0.33	0.29
C-P_2O_5	2007	りん酸アンモニア	143	9.81	0.13	1.3	0.47	0.28
	2008	りん酸アンモニア	146	15.82	0.13	0.8	0.32	0.40
	2010	りん酸アンモニア	141	14.59	0.18	1.2	0.47	0.38
	2013	りん酸アンモニア，過りん酸石灰	129	20.60	0.20	1.0	0.44	0.45
S-P_2O_5	2006	過りん酸石灰，りん酸アンモニア	144	10.88	0.11	1.0	0.37	0.30
	2009	過りん酸石灰	125	6.37	0.12	1.9	0.62	0.19
	2011	りん酸アンモニア,過りん酸石灰	114	17.44	0.22	1.3	0.53	0.42
W-P_2O_5	2006	過りん酸石灰，りん酸アンモニア	157	9.02	0.12	1.3	0.46	0.26
	2007	りん酸アンモニア	143	7.02	0.23	3.2	1.08	0.21
	2008	りん酸アンモニア	149	9.16	0.24	2.7	0.93	0.26
	2009	過りん酸石灰	144	4.57	0.08	1.8	0.56	0.15
	2010	りん酸アンモニア	144	11.56	0.52	4.5	1.63	0.32
	2011	りん酸アンモニア,過りん酸石灰	133	14.51	0.19	1.3	0.50	0.38
	2012		131	2.86	0.06	2.1	0.61	0.10
	2013	りん酸アンモニア，過りん酸石灰	134	12.09	0.38	3.1	1.14	0.33
C-K_2O	2011	硫酸加里	122	10.41	0.23	2.2	0.79	0.29
W-K_2O	2006	塩化加里	156	12.38	0.22	1.8	0.64	0.34
	2007	硫酸加里	145	8.43	0.15	1.8	0.61	0.24
	2008	塩化加里	147	11.39	0.15	1.3	0.47	0.32
	2009	硫酸加里	145	8.35	0.13	1.5	0.52	0.24
	2010	塩化加里	142	14.72	0.17	1.2	0.44	0.38
	2011	塩化加里	132	10.17	0.17	1.7	0.59	0.29
	2012		131	2.43	0.06	2.4	0.68	0.09
	2013	塩化加里，硫酸加里苦土	132	11.74	0.35	3.0	1.08	0.32

表5-1 （続き）

試験項目	実施年	試験項目に由来する主な原料名	参加試験室数	Median[1] (%,mg/kg)[6]	NIQR[2] (%,mg/kg)[6]	RSD_{rob}[3] (%)	$HorRat_{rob}$[4]	HSD[5] (%,mg/kg)[6]
C-MgO	2007	副産苦土肥料	137	3.41	0.07	2.2	0.65	0.11
	2008	水酸化苦土肥料	142	4.62	0.12	2.5	0.80	0.15
	2010	副産苦土肥料	137	3.11	0.07	2.4	0.71	0.10
	2011	水酸化苦土肥料	128	2.48	0.07	2.8	0.81	0.09
	2013	副産苦土肥料，硫酸加里苦土	129	6.18	0.13	2.2	0.71	0.19
W-MgO	2011	水酸化苦土肥料	119	1.94	0.09	4.6	1.28	0.07
	2012		116	1.68	0.05	3.1	0.83	0.06
	2013	硫酸加里苦土	120	3.79	0.68	18.0	5.50	0.12
C-MnO	2009	熔成微量要素複合肥料	126	0.54	0.02	3.6	0.83	0.02
	2013	熔成微量要素複合肥料	115	0.51	0.01	2.8	0.64	0.02
W-MnO	2012		112	1.25	0.03	2.4	0.61	0.05
C-B_2O_3	2009	熔成微量要素複合肥料	120	0.28	0.02	5.6	1.16	0.01
	2013	熔成微量要素複合肥料	104	0.25	0.01	5.5	1.11	0.01
W-B_2O_3	2006	ほう酸塩肥料	132	0.40	0.02	4.2	0.91	0.02
	2008	ほう酸塩肥料	119	0.26	0.01	2.9	0.58	0.01
	2010	ほう酸塩肥料	116	0.29	0.01	3.4	0.70	0.01
	2012		103	0.240	0.009	3.6	0.72	0.012
Fe	2012		86	0.240	0.013	5.4	1.09	0.012
Cu	2012		88	0.0545	0.0014	2.6	0.42	0.0034
Zn	2012		87	0.0595	0.0029	4.8	0.78	0.0036
Mo	2012		52	0.210	0.010	4.7	0.92	0.011
T-As	2006		84	1.89	0.19	10.1	0.70	0.27
	2007		68	3.84	0.38	9.8	0.75	0.50
	2008		65	4.14	0.41	9.8	0.76	0.53
	2009		59	4.31	0.60	13.9	1.09	0.55
	2010		61	3.62	0.36	9.8	0.75	0.48
	2011		52	4.74	0.61	12.9	1.02	0.60
	2013		52	10.31	0.99	9.6	0.85	1.16
T-Cd	2006		95	1.26	0.11	9.1	0.59	0.19
	2007		85	1.24	0.12	9.6	0.62	0.19
	2008		86	2.60	0.15	5.9	0.43	0.36
	2009		73	0.47	0.08	17.3	0.97	0.08
	2010		79	1.22	0.08	6.7	0.43	0.19
	2011		74	2.03	0.09	4.4	0.31	0.29
	2013		65	3.02	0.24	8.1	0.60	0.41

1） 全体の中央値
2） ロバスト標準偏差
3） ロバスト相対標準偏差
4） ロバスト標準偏差から求めたHorRat値
5） Horwitz修正式より得られた平均的な室間再現標準偏差
6） T-As及びT-Cdはmg/kg，その他の成分は%（質量分率）

表5-2 鉱さいけい酸質肥料における2006～2013年度の共同試験成績の統計量

試験項目	実施年	試験項目に由来する主な原料名	参加試験室数	Median[1] (%)[6]	NIQR[2] (%)[6]	RSD_{rob}[3] (%)	$HorRat_{rob}$[4]	HSD[5] (%)[6]
S-SiO_2	2006		66	33.92	0.60	1.8	1.03	0.58
	2007		67	28.25	0.87	3.1	1.63	0.53
	2008		68	33.35	0.49	1.5	0.85	0.58
	2009		69	32.67	0.62	1.9	1.09	0.57
	2010		67	33.52	0.57	1.7	0.98	0.58
	2011		59	30.69	0.75	2.4	1.35	0.55
	2012		67	36.15	0.48	1.3	0.80	0.60
	2013		60	35.18	0.55	1.6	0.92	0.59
AL	2006		75	50.56	0.64	1.3	0.91	0.71
	2007		83	48.70	0.76	1.6	1.08	0.70
	2008		86	50.90	0.71	1.4	0.99	0.71
	2009		85	39.03	0.92	2.4	1.47	0.62
	2010		85	49.26	0.80	1.6	1.14	0.70
	2011		76	49.48	0.68	1.4	0.97	0.70
	2012		77	49.95	0.71	1.4	1.00	0.71
	2013		78	36.79	0.95	2.6	1.56	0.61
C-MgO	2006		78	6.18	0.13	2.0	0.67	0.19
	2007		86	3.17	0.21	6.6	1.95	0.11
	2008		89	5.80	0.14	2.4	0.79	0.18
	2009		87	2.34	0.20	8.7	2.48	0.08
	2010		88	5.42	0.11	2.1	0.67	0.17
	2011		78	3.36	0.23	6.8	2.05	0.11
	2012		81	6.77	0.19	2.8	0.94	0.20
	2013		79	3.77	0.14	3.6	1.11	0.12

1） 全体の中央値
2） ロバスト標準偏差
3） ロバスト相対標準偏差
4） ロバスト標準偏差から求めたHorRat値
5） Horwitz修正式より得られた平均的な室間再現標準偏差
6） 質量分率

表6 試験方法別の共同試験成績の統計量

試験項目	試験方法	報告試験室数	Median[1] (%,mg/kg)[6]	NIQR[2] (%,mg/kg)[6]	RSD_{rob}[3] (%)	$HorRat_{rob}$[4]	HSD[5] (%,mg/kg)[6]
（化成肥料）							
Mois	加熱減量法	136	2.93	0.84	28.7	8.42	0.10
A-N	蒸留法	130	9.92	0.75	7.5	2.66	0.28
C-P_2O_5	バナドモリブデン酸アンモニウム法	128	20.60	0.19	0.9	0.43	0.45
W-P_2O_5	バナドモリブデン酸アンモニウム法	133	12.08	0.39	3.2	1.16	0.33
W-K_2O	フレーム光度法	57	11.72	0.39	3.3	1.19	0.32
	原子吸光法	65	11.81	0.33	2.8	1.00	0.33
C-MgO	原子吸光法	116	6.17	0.13	2.1	0.69	0.19
	ICP発光分光分析法	9	6.22	0.10	1.5	0.51	0.19
W-MgO	原子吸光法	109	3.80	0.63	16.6	5.07	0.12
	ICP発光分光分析法	7	3.06	0.86	28.1	8.31	0.10
C-MnO	原子吸光法	102	0.513	0.013	2.5	0.56	0.023
	ICP発光分光分析法	9	0.519	0.030	5.9	1.33	0.023
C-B_2O_3	アゾメチンH法	95	0.247	0.014	5.6	1.12	0.012
	ICP発光分光分析法	8	0.243	0.005	2.0	0.40	0.012
T-As	ジエチルジチオカルバミン酸銀法	29	10.13	0.90	8.9	0.79	1.14
	原子吸光法	17	10.49	0.63	6.0	0.53	1.18
T-Cd	原子吸光法（溶媒抽出）	9	3.20	0.39	12.3	0.91	0.43
	原子吸光法（D2補正）	21	3.11	0.51	16.4	1.22	0.42
	原子吸光法（ゼーマン補正）	26	3.02	0.11	3.7	0.27	0.41
	ICP発光分光分析法	8	2.70	0.14	5.4	0.39	0.37
（鉱さいけい酸質肥料）							
S-SiO_2	ふっ化カリウム法	46	35.14	0.55	1.6	0.93	0.59
	過塩素酸法	11	35.50	0.70	2.0	1.18	0.60
AL	EDTA法	15	37.30	1.01	2.7	1.66	0.61
	原子吸光法	59	36.56	0.86	2.4	1.42	0.60
S-CaO	原子吸光法	59	30.06	0.65	2.2	1.18	0.55
S-MgO	原子吸光法	59	4.62	0.15	3.2	1.01	0.15
C-MgO	EDTA法	7	3.86	1.35	34.9	10.68	0.13
	原子吸光法	68	3.75	0.11	3.1	0.93	0.12

1） 全体の中央値
2） ロバスト標準偏差
3） ロバスト相対標準偏差
4） ロバスト標準偏差から求めたHorRat値
5） Horwitz修正式より得られた平均的な室間再現標準偏差
6） T-As及びT-Cdはmg/kg，その他の成分は%（質量分率）

3） 試験成績の傾向

同一の試験室において報告された異なる試験成績の z スコアの関係を図 2-1～図 2-7 に示した．具体的には，同一の共同試験用試料について同様の抽出方法で異なる成分（化成肥料中の C-P_2O_5 と C-MgO 等），同一の共同試験用試料について異なる抽出方法で同一の成分（化成肥料中の C-P_2O_5 と W-P_2O_5 等），そして同様の抽出方法及び同一の成分で異なる共同試験用試料（化成肥料及び鉱さいけい酸質肥料中の C-MgO 等）の関係図である．

更に，この関係図に z スコアが同じ値となる点線を書き加えた．この直線に平行方向のプロットは同様の抽出方法又は同一の成分の測定方法において系統的な偏りが要因であると考えられる．

なお，2）及び 3）を参考に「4） 成分別の試験成績の評価」で各成分別の試験成績を評価することとする．

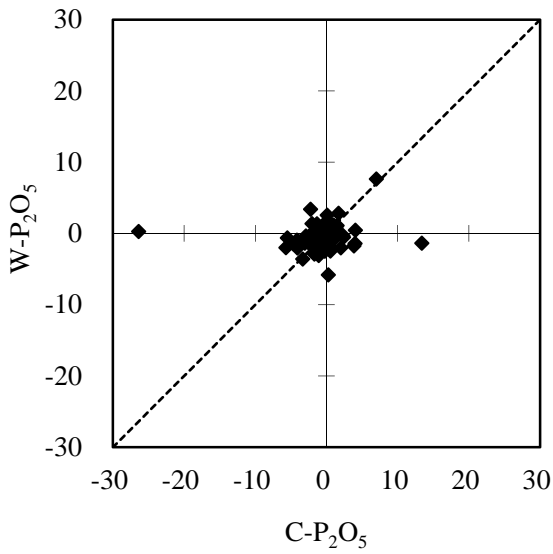



図2-1 化成肥料中のW-P_2O_5－C-P_2O_5の zスコアの関係

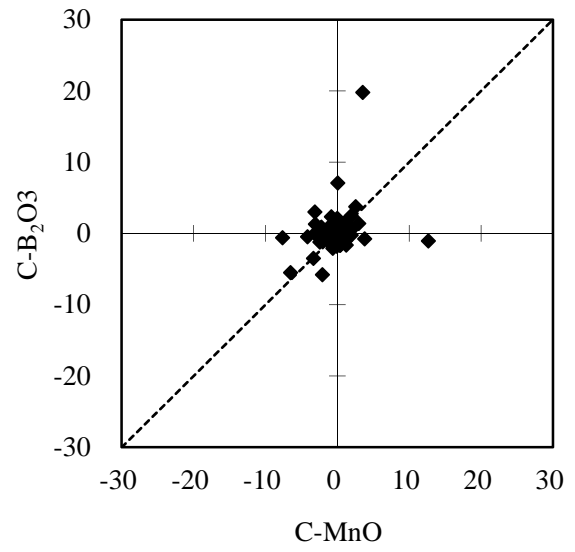



図2-2 化成肥料中のC-B_2O_3－C-MnOの zスコアの関係

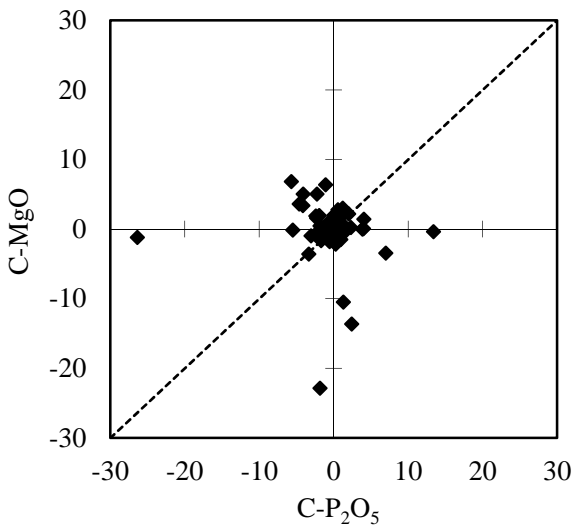



図2-3 化成肥料中のC-MgO－C-P_2O_5の zスコアの関係

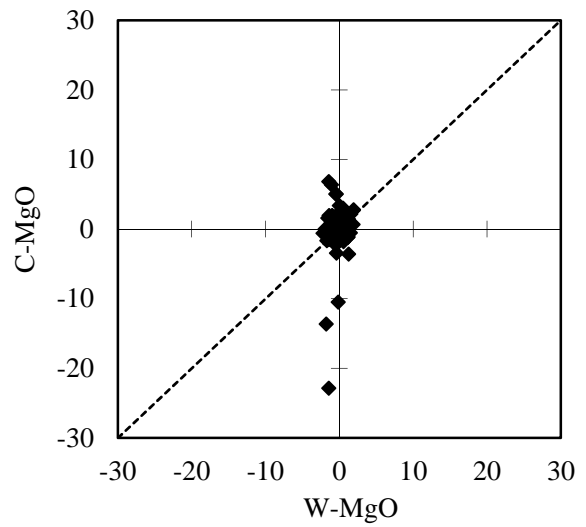



図2-4 化成肥料中のC-MgO－W-MgOの zスコアの関係

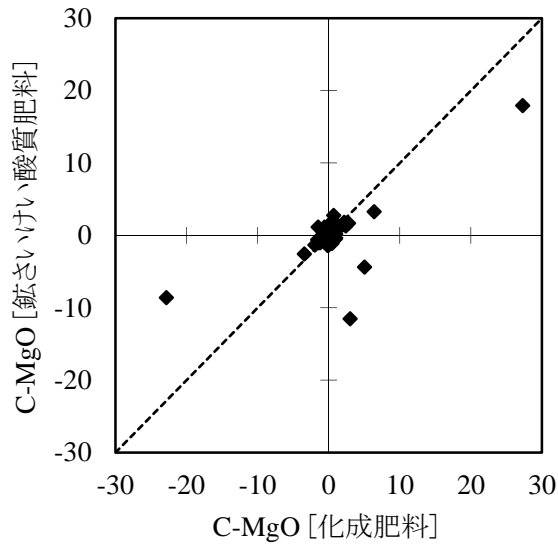



図2-5 鉱さいけい酸質肥料及び化成肥料中のC-MgOのzスコアの関係

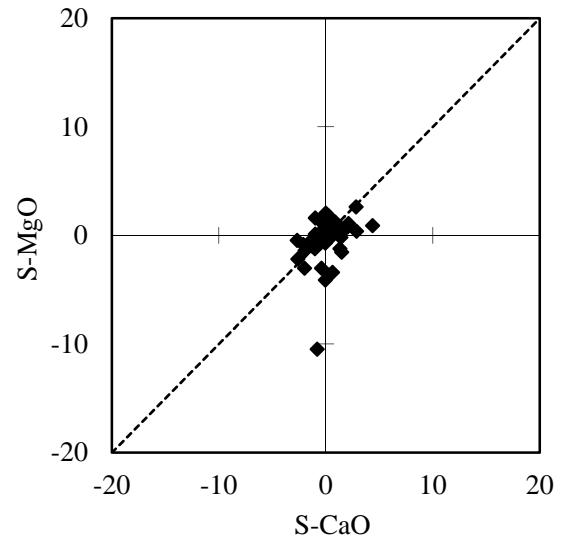
◆ 同一試験室におけるzスコアのプロット

------- 線形 (zスコアが同じ値を示す直線)

図2-6 鉱さいけい酸質肥料中のS-MgO－S-CaOのzスコアの関係

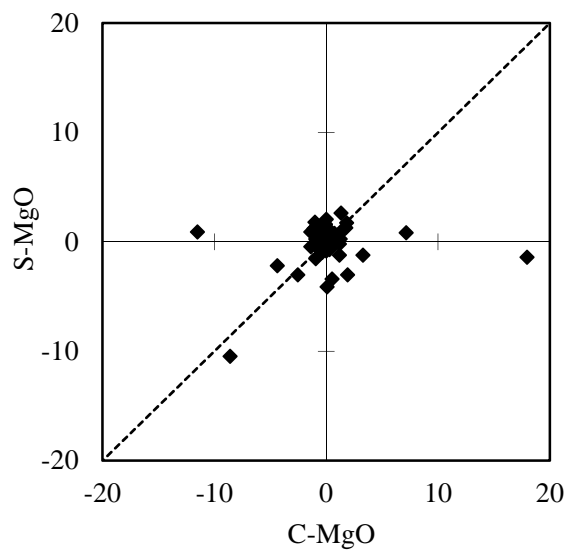
◆ 同一試験室におけるzスコアのプロット

------- 線形 (zスコアが同じ値を示す直線)

図2-7 鉱さいけい酸質肥料中のS-MgO－C-MgOのzスコアの関係

◆ 同一試験室におけるzスコアのプロット

------- 線形 (zスコアが同じ値を示す直線)

4） 成分別の試験成績の評価

（1） 化成肥料中の水分（Mois）

参加 136 試験室のうち，全ての試験室が加熱減量法により分析した．試験成績の度数分布を図 3-1 に示す．平均値 2.88 %（質量分率）と Median 2.93 %（質量分率）はやや乖離し，「満足」と評価された試験室は全体の 99 %であった．NIQR 0.84 %（質量分率）は，HSD 0.10 %（質量分率）より大きい値であり，2006～2011 年度の

NIQR 0.12 %（質量分率）～0.41 %（質量分率）及び HSD 0.04 %（質量分率）～0.16 %（質量分率）と比較しても今回の NIQR は大きな値であった．「不満足」と評価された試験室は存在しなかった．当該化成肥料の原料である過りん酸石灰は加熱により損失されやすい結晶水を含有しており，加熱時間は 3 時間が採用されているが乾燥機内の温度不均一等によりばらつきが大きく生じたことが考えられる．乾燥機内の位置によっては実際の温度が設定温度と異なることがあるため，強制循環式恒温乾燥機を使用することが望ましい．また，機内の気流により試料が飛散することがあるので留意されたい．

（2） 化成肥料中のアンモニア性窒素（A-N）

参加 136 試験室のうち，130 試験室が蒸留法，5 試験室が自動分析装置による方法を用い，1 試験室が通気法を用いた．試験成績の度数分布を図 3-2 に示す．平均値 9.87 %（質量分率）と Median 9.92 %（質量分率）はやや乖離し，全ての試験室が「満足」と評価された．NIQR 0.74 %（質量分率）は，HSD 0.28 %（質量分率）より大きい値であった．蒸留法における蒸留操作の初期はアンモニアの流出が多いため，水酸化ナトリウムを添加後は，蒸留フラスコを素早く蒸留装置に装着するよう留意されたい．

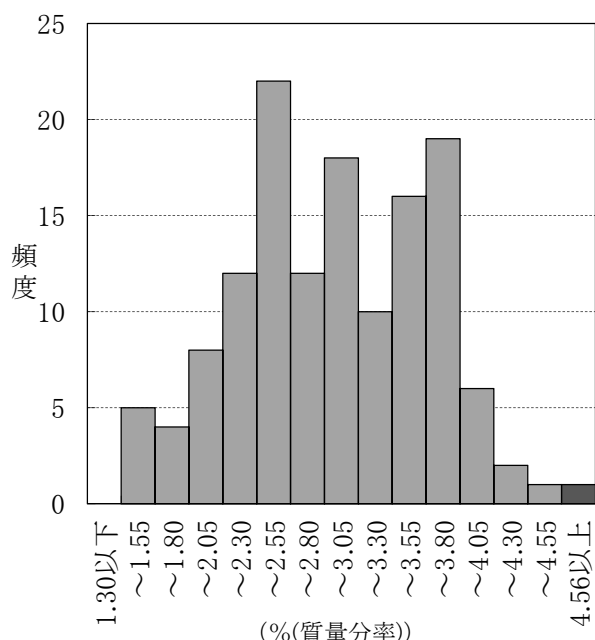



図3-1 化成肥料中の水分の分析成績

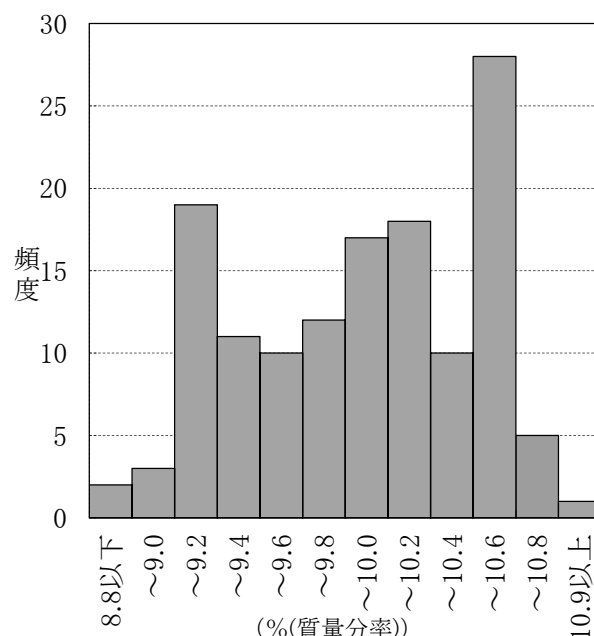



図3-2 化成肥料中のアンモニア性窒素の分析成績

（3） 化成肥料中のく溶性りん酸（C-P_2O_5）

参加 129 試験室のうち，128 試験室がバナドモリブデン酸アンモニウム法，1 試験室が ICP 発光分光分析法を用いた．試験成績の度数分布を図 3-3 に示す．平均値 20.64 %（質量分率）と Median 20.60 %（質量分率）はほぼ一致し，「満足」と評価された試験室は全体の 84 %であった．NIQR 0.20 %（質量分率）は，HSD 0.45 %（質量分率）より小さい値であり，「不満足」と評価された試験室は全体の 11 %にあたる 14 試験室が該当し，全てバナドモリブデン酸アンモニウム法によるものであった．く溶性りん酸の測定時には，試料液中及び標準液中のくえん酸量を同一とし，発色後は 30～120 分の間に測定を終了させることに留意されたい．

(4) 化成肥料中の水溶性りん酸（W-P_2O_5）

参加 134 試験室のうち，133 試験室がバナドモリブデン酸アンモニウム法，1 試験室がモリブデン青法を用いた．試験成績の度数分布を図 3-4 に示す．平均値 12.05 %（質量分率）と Median 12.09 %（質量分率）はほぼ一致し，「満足」と評価された試験室は全体の 90 %であった．NIQR 0.38 %（質量分率）は，HSD 0.33 %（質量分率）よりやや大きい値であり，「不満足」と評価された試験室は全体の 4 %にあたる 5 試験室が該当し，全てバナドモリブデン酸アンモニウム法により分析した試験室であった．

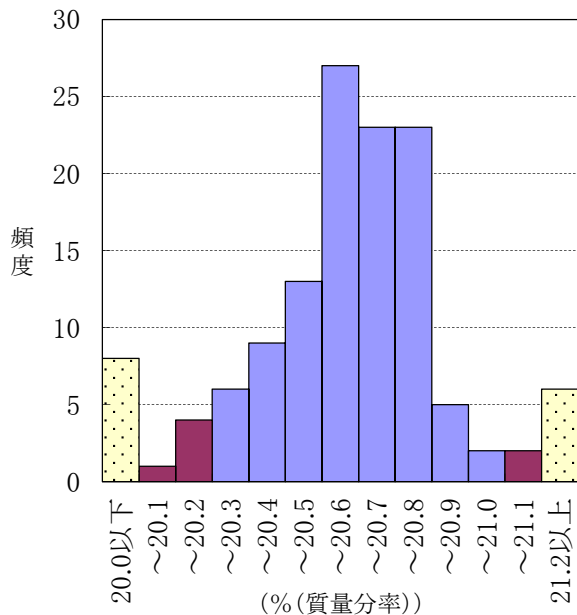



図3-3 化成肥料中のく溶性りん酸の分析成績

図3-4 化成肥料中の水溶性りん酸の分析成績

(5) 化成肥料中の水溶性加里（W-K_2O）

参加 132 試験室のうち，65 試験室が原子吸光法，57 試験室がフレーム光度法，5 試験室が ICP 発光分光分析法，4 試験室がテトラフェニルホウ酸ナトリウム容量法を用いた．また，1 試験室が原子吸光法及びフレーム光度法による測定値の平均値を分析成績として報告した．試験成績の度数分布を図 3-5 に示す．平均値 11.70 %（質量分率）と Median 11.74 %（質量分率）はほぼ一致し「満足」と評価された試験室は全体の 89 %であった．NIQR 0.35 %（質量分率）は HSD 0.32 %（質量分率）とほぼ一致した．「不満足」と評価された試験室は全体の 5 %にあたる 7 試験室が該当し，内訳は原子吸光法が 4 試験室，ICP 発光分光分析法が 2 試験室及びフレーム光度法が 1 試験室であった．原子吸光法及びフレーム光度法による分析成績について平均値の差による検定を行ったところ，それぞれの平均値に有意水準 5 %で有意な差が認められた．フレーム光度法において低値傾向の分析成績がみられており，りん酸，ほう酸等の共存物質によるカリウム測定値への負の干渉が認められる場合は測定する溶液を希釈する等の加えることを推奨する．フレーム光度法及び原子吸光法で測定する際は検量線の直線性に留意し，調製した標準液についても，時間の経過とともに濃度変化が生じることがあるので定期的に調製する必要がある．また，定量には試料溶液の噴霧効率が影響するため，測定時には試料液及び標準液の温度，酸組成及び酸濃度を同一とすることが望ましい．

（6） 化成肥料中のく溶性苦土（C-MgO）

参加 129 試験室のうち，116 試験室が原子吸光法，9 試験室が ICP 発光分光分析法，4 試験室が EDTA 法を用いた．試験成績の度数分布を図 3-6 に示す．平均値 6.19 %（質量分率）と Median 6.18 %（質量分率）はほぼ一致し「満足」と評価された試験室は全体の 86 %であった．NIQR 0.13 %（質量分率）は HSD 0.19 %（質量分率）と比較し小さい値となった．「不満足」と評価された試験室は全体の 9 %にあたる 12 試験室が該当し，内訳は原子吸光法が 11 試験室，ICP 発光分光分析法が 1 試験室であった．原子吸光法及び ICP 発光分光分析法による分析成績について平均値の差による検定を行ったところ，それぞれの平均値に有意水準 5 %で有意な差は認めなかった．

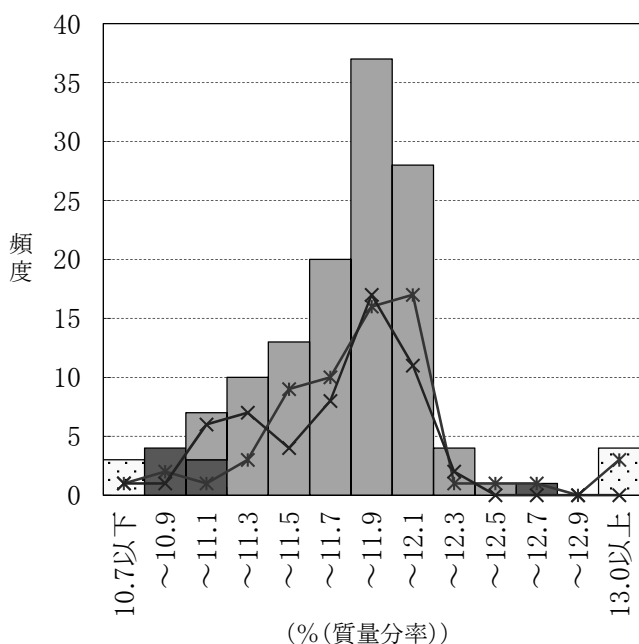



図3-5 化成肥料中の水溶性加里の分析成績

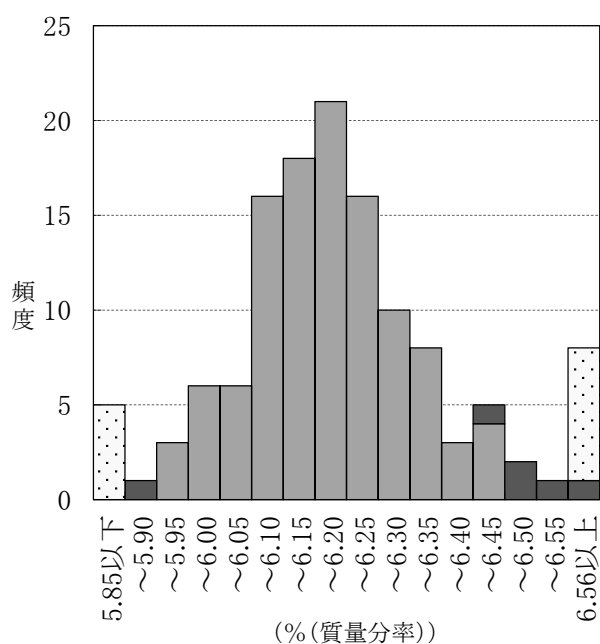



図3-6 化成肥料中のく溶性苦土の分析成績

（7） 化成肥料中の水溶性苦土（W-MgO）

参加 120 試験室のうち，109 試験室が原子吸光法，7 試験室が ICP 発光分光分析法，4 試験室が EDTA 法を用いた．試験成績の度数分布を図 3-7 に示す．平均値 3.75 %（質量分率）と Median 3.79 %（質量分率）はほぼ一致し「満足」と評価された試験室は全体の 99 %であった．NIQR 0.68 %（質量分率）は HSD 0.12 %（質量分率）と比較し大きい値となった．「不満足」と評価された試験室は存在しなかった．原子吸光法及び ICP 発光分光分析法による分析成績について平均値の差による検定を行ったところ，それぞれの平均値に有意水準 5 %で有意な差は認めなかった．

（8） 化成肥料中のく溶性マンガン（C-MnO）

参加 115 試験室のうち，102 試験室が原子吸光法，9 試験室が ICP 発光分光分析法，4 試験室が過ヨウ素酸カリウム法を用いた．試験成績の度数分布を図 3-8 に示す．平均値 0.517 %（質量分率）と Median 0.513 %（質量分率）はほぼ一致し，「満足」と評価された試験室は全体の 77 %であった．NIQR 0.014 %（質量分率）は HSD

0.023 %(質量分率)と比較して小さい値となった.「不満足」と評価された試験室は全体の 10 %にあたる 12 試験室が該当し, 内訳は原子吸光法が 10 試験室, ICP 発光分光分析法が 2 試験室であった. 原子吸光法及び ICP 発光分光分析法による分析成績について平均値の差による検定を行ったところ, それぞれの平均値に有意水準 5 %で有意な差は認めなかった.

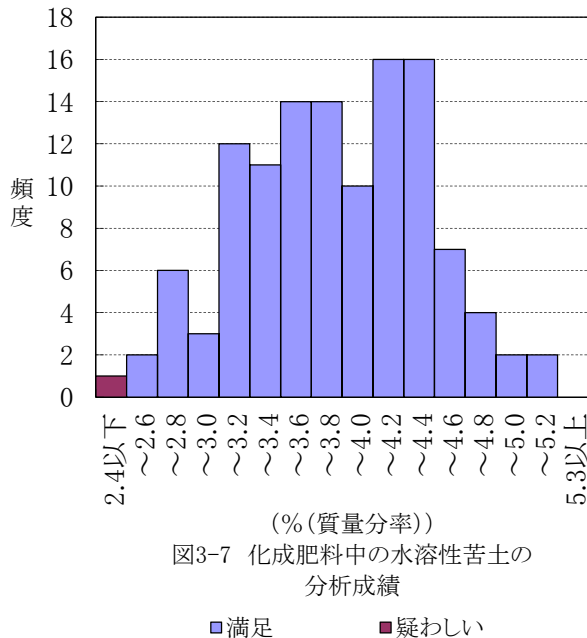



図3-7 化成肥料中の水溶性苦土の分析成績

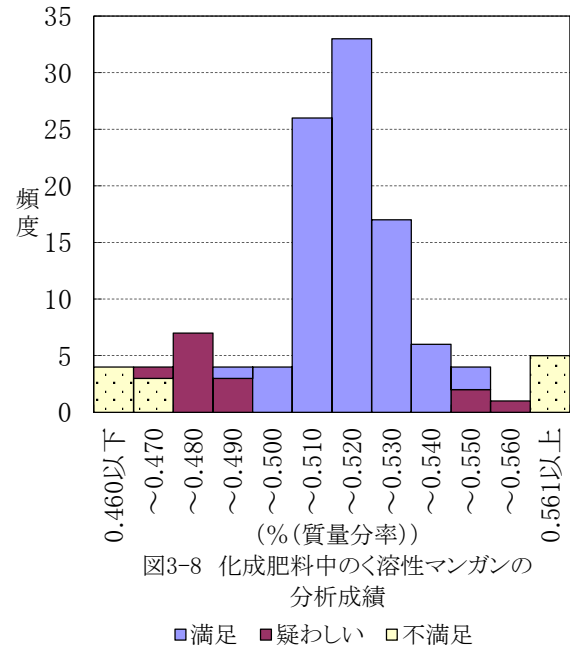



図3-8 化成肥料中のく溶性マンガンの分析成績

(9) 化成肥料中のく溶性ほう素($C\text{-}B_2O_3$)

参加 104 試験室のうち, 95 試験室がアゾメチン H 法, 8 試験室が ICP 発光分光分析法, 1 試験室がクルクミン法を用いた. 試験成績の度数分布を図 3-9 に示す. 平均値 0.248 %(質量分率)と Median 0.246 %(質量分率)はほぼ一致し「満足」 と評価された試験室は全体の 89 %であった. NIQR 0.014 %(質量分率)は HSD 0.012 %(質量分率)とほぼ一致した.「不満足」と評価された試験室は全体の 7 %にあたる 7 試験室が該当し, 全てアゾメチン H 法を採用した試験室であった. アゾメチン H 法及び ICP 発光分光分析法による分析成績について平均値の差による検定を行ったところ, それぞれの平均値に有意水準 5 %で有意な差は認めなかった.

(10) 化成肥料中のひ素全量(T-As)

参加 52 試験室のうち, 29 試験室がジエチルジチオカルバミン酸銀法, 17 試験室が原子吸光法, 6 試験室が ICP 発光分光分析法を用いた. 試験成績の度数分布を図 3-10 に示す. 平均値 10.22 mg/kg と Median 10.31 mg/kg はやや乖離し,「満足」と評価された試験室は全体の 90 %であった. NIQR 0.99 mg/kg は HSD 1.16 mg/kg と比較して小さい値であった.「不満足」と評価された試験室は全体の 4 %にあたる 2 試験室が該当し, 全て ICP 発光分光分析法を採用した試験室であった. ジエチルジチオカルバミン酸銀法及び原子吸光法による分析成績について平均値の差による検定を行ったところ, それぞれの平均値に有意水準 5 %で有意な差は認めなかった.

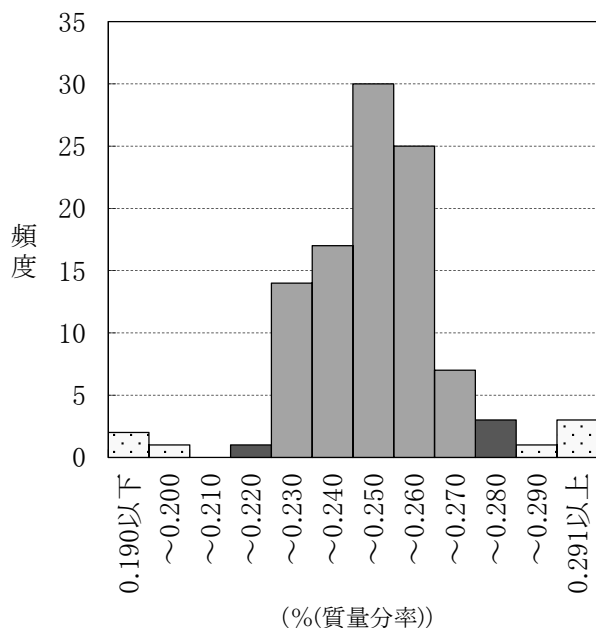



図3-9 化成肥料中のく溶性ほう素の分析成績

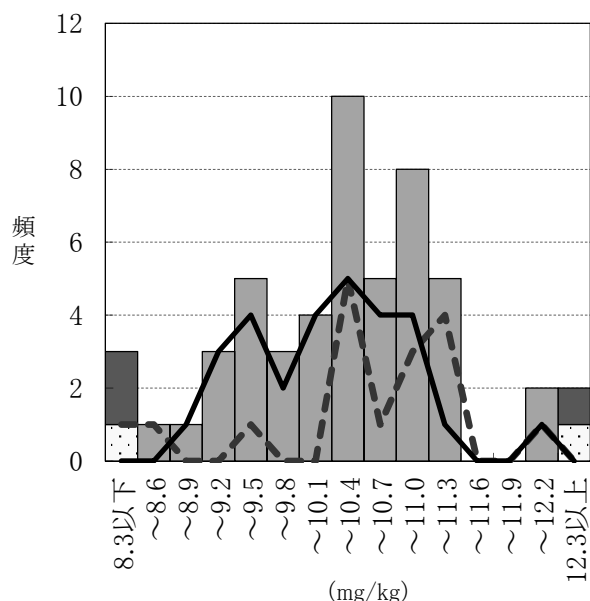



図3-10 化成肥料中のひ素全量の分析成績

（11） 化成肥料中のカドミウム全量（T-Cd）

参加 65 試験室のうち，57 試験室が原子吸光法を用いており，そのうち溶媒抽出法が 9 試験室，D2 補正法が 21 試験室，ゼーマン補正法が 26 試験室，D2 補正法及びゼーマン補正法による測定値の平均値の報告が 1 試験室あった．また，8 試験室が ICP 発光分光分析法を用いた．試験成績の度数分布を図 3-11 に示す．平均値 3.07 mg/kg と Median 3.02 mg/kg はやや乖離し「満足」と評価された試験室は全体の 82 %であった．NIQR 0.24 mg/kg は HSD 0.41 mg/kg より小さい値であった．「不満足」と評価された試験室は全体の 14 %にあたる 9 試験室が該当し，内訳は溶媒抽出法が 3 試験室，D2 補正法が 4 試験室，ゼーマン補正法及び ICP 発光分光分析法がそれぞれ 1 試験室であった．原子吸光法及び ICP 発光分光分析法による分析成績について平均値の差による検定を行ったところ，それぞれの平均値に有意水準 5 %で有意な差を認めた．ICP 発光分光分析法によりカドミウムを測定する際は，測定波長によってはひ素等の共存元素の影響により干渉する場合があるため留意されたい．

（12） 鉱さいけい酸質肥料中の可溶性けい酸（S-SiO_2）

参加 60 試験室のうち，46 試験室がフッ化カリウム法，11 試験室が過塩素酸法，3 試験室が塩酸法を用いた．試験成績の度数分布を図 4-1 に示す．平均値 35.15 %（質量分率）と Median 35.18 %（質量分率）はほぼ一致し，「満足」と評価された試験室は全体の 88 %であった．NIQR 0.55 %（質量分率）は，HSD 0.59 %（質量分率）より小さい値であった．2006～2012 年度の NIQR 0.48 %（質量分率）～0.87 %（質量分率）及び HSD 0.53 %（質量分率）～0.60 %（質量分率）とほぼ変わらない値であった．「不満足」と評価された試験室は全体の 5 %にあたる 3 試験室であり，内訳はフッ化カリウム法が 2 試験室，過塩素酸法が 1 試験室であった．

フッ化カリウム法及び過塩素酸法による分析成績について平均値の差による検定を行ったところ，それぞれの平均値に有意水準 5 %で有意な差は認めなかった．

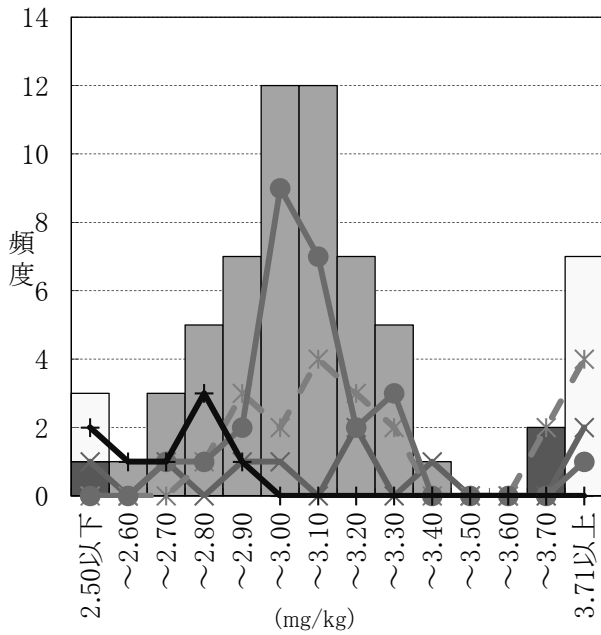



図3-11 化成肥料中のカドミウム全量の分析成績

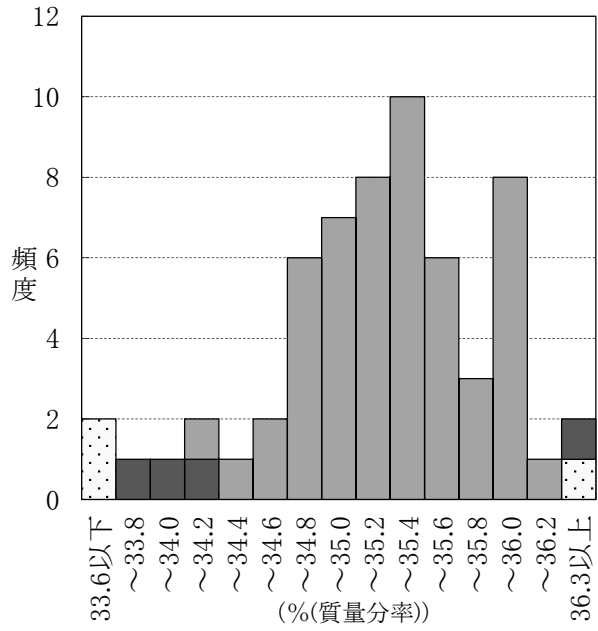



図4-1 鉱さいけい酸質肥料中の可溶性けい酸の分析成績

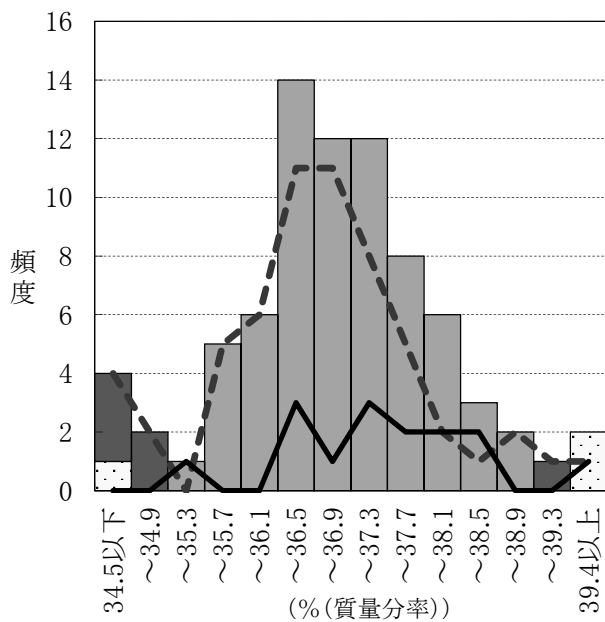



図4-2 鉱さいけい酸質肥料中のアルカリ分の分析成績

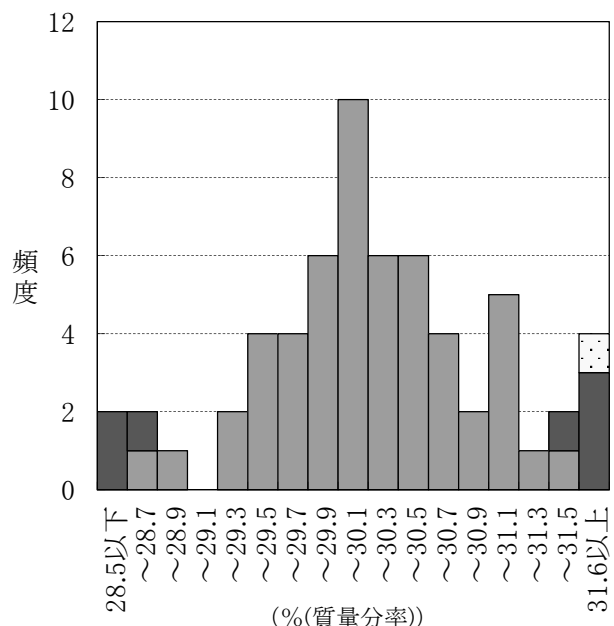



図4-3 鉱さいけい酸質肥料中の可溶性石灰の分析成績

(13) 鉱さいけい酸質肥料中のアルカリ分(AL)

参加 78 試験室のうち，59 試験室が原子吸光法，15 試験室が EDTA 法，4 試験室が ICP 発光分光分析法を

用いた．試験成績の度数分布を図 4-2 に示す．平均値 36.78 %（質量分率）と Median 36.79 %（質量分率）はほぼ一致し，「満足」と評価された試験室は全体の 88 %であった．NIQR 0.95 %（質量分率）は，HSD 0.61 %（質量分率）より大きい値であった．「不満足」と評価された試験室は全体 4 %にあたる 3 試験室が該当し，内訳は EDTA 法が 1 試験室，原子吸光法が 2 試験室であった．

原子吸光法及び EDTA 法による分析成績について平均値の差による検定を行ったところ，それぞれの平均値に有意水準 5 %で有意な差が認められ，原子吸光法と比較して EDTA 法が高値傾向を示した．今回の鉱さいけい酸質肥料のようにマンガンを含有する場合は，EDTA 法での滴定におけるプラスの誤差を防ぐために，シアン化カリウムを加える等によりマンガンの影響を除く必要がある．

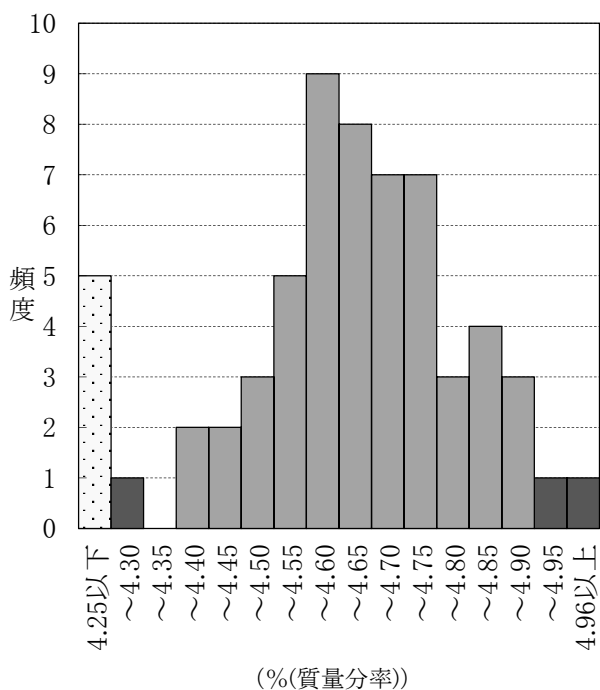
原子吸光法を用いた 59 試験室及び ICP 発光分光分析法を用いた 4 試験室のうち 2 試験室，合計 61 試験室から S-CaO 及び S-MgO の分析値の報告を受けた．それらの試験成績の度数分布を図 4-3 及び図 4-4 に示す．S-CaO の平均値 30.19 %（質量分率）と Median 30.09 %（質量分率）はやや乖離し，NIQR は 0.70 %（質量分率）であり，1 試験室が「不満足」という結果であった．一方，S-MgO の平均値 4.59 %（質量分率）と Median 4.62 %（質量分率）はほぼ一致し，NIQR は 0.16 %（質量分率）であり，5 試験室が「不満足」という結果であった．

（%（質量分率））

図4-4 鉱さいけい酸質肥料中の可溶性苦土の分析成績

（%（質量分率））

図4-5 鉱さいけい酸質肥料中のく溶性苦土の分析成績

（14） 鉱さいけい酸質肥料中のく溶性苦土（C-MgO）

参加 79 試験室のうち，68 試験室が原子吸光法，7 試験室が EDTA 法，4 試験室が ICP 発光分光分析法を用いた．試験成績の度数分布を図 4-5 に示す．平均値 3.88 %（質量分率）と Median 3.77 %（質量分率）は乖離していた．「満足」と評価された試験室は全体の 85 %であった．NIQR 0.14 %（質量分率）は HSD 0.12 %（質量分率）とほぼ一致した．「不満足」と評価された試験室は全体の 13 %にあたる 10 試験室が該当し，内訳は原子吸光法が 5 試験室，EDTA 法が 4 試験室，ICP 発光分光分析法が 1 試験室であった．原子吸光法及び EDTA 法による分析成績について平均値の差による検定を行ったところ，それぞれの平均値に有意水準 5 %で有意な

差は認めなかった.

鉱さいけい酸質肥料については, 試料調製年度によって生産方法が異なっており, 徐冷生産方式の年のC-MgO分析値はRSD_{rob}が大きい値となる傾向がみられた(表5-2より, 2007年の6.6 %, 2009年の8.7 %, 2011年の 6.8 %). この対策として実施要領にて抽出時間の厳守と抽出後の速やかなろ過操作を指定したところ, 今年度の鉱さいけい酸質肥料は徐冷生産方式でありばらつきが大きくなることが予測されたが, RSD_{rob}は 3.6 %との結果で, 過去の値と比較して小さい値であった.

5) 測定波長及び検量線の作成と評価結果の傾向

く溶性りん酸をバナドモリブデン酸アンモニウム法で試験した試験室には, 分析成績の他に標準液等の吸光度の報告も求めた.

その結果, バナドモリブデン酸アンモニウム法を用いて試験した128試験室のうち, 測定波長は119試験室から報告があり, 測定波長を区分した試験室数を表7に示した. その結果, 420 nm は83試験室(70 %), 400 nm, 410 nm 及び415 nm は合わせて31試験室(26 %)に用いられており, その他の波長はそれぞれ1試験室であった. また, 測定波長別の不満足数(z-スコア>|3|)及びその割合には特筆する傾向は認められなかった.

119試験室から標準液及び吸光度の報告があり, 測定方法又は標準液の調製方法別の試験室数を表8に示した. 94試験室が検量線法を用い, 25試験室が示差法を用いていた. また, 95試験室がりん酸(P_2O_5)として調製した標準液を用い, 24 試験室がりん(P)として調製した標準液を用いていた. 不満足数及びその割合について検量線法と示差法について顕著な差は認められなかった. しかしながら, りん酸(P_2O_5)として調製した標準液を用いた場合の不満足数及びその割合が4試験室及び4 %に対し, りん(P)として調製した標準液を用いた場合の方が9試験室及び38 %と顕著な差が認められた. このことが本年度に限ったことか, 何らかの要因があるのかを検討するため, 今後も調査を継続していきたい.

また, 測定波長として400 nm, 410 nm, 415 nm又は420 nmを用いた検量線について, 最小二乗法を用いて回帰式の傾きを算出し, その概要を表7に示した. その結果, 測定波長420 nmにおける傾きの中央値は0.234 abs・100 mL/P_2O_5-mgであり, 測定波長が小さくなるにつれてその傾きは大きくなり, 測定波長400 nmでは0.385 abs・100 mL/P_2O_5-mg であった. これは吸光度曲線[10)]と一致する傾向であり, それらの NIQR は 0.006 abs・100 mL/P_2O_5-mg～0.014 abs・100 mL/P_2O_5-mgと非常にばらつきは小さかった.

表7 く溶性りん酸の測定波長と試験成績

測定波長	試験室数			傾き	
	回答数	内不満足数	不満足の割合 (%)	中央値[1)]	NIQR[1)]
420	83	5	6	0.234	0.006
415	7	1	14	0.258	0.012
410	18	5	28	0.298	0.012
400	6	2	33	0.385	0.014
その他	5	0	0	―	―

1) 単位: abs・100 mL/P_2O_5-mg

表8 く溶性りん酸の測定方法と試験成績

測定方法又は標準液の調製方法	試験室数		
	回答数	内不満足数	不満足の割合 (%)
検量線法	94	12	13
示差法	25	1	4
P_2O_5 [1)]	95	4	4
P [2)]	24	9	38

1） りん酸（P_2O_5）として標準液を調製
2） りん（P）として標準液を調製

6） 内部品質管理と評価結果の傾向

この外部精度管理試験に際して内部品質管理状況を求めたところ，表 9 のとおり，149 試験室（96 %）から回答があった．82 試験室（全体の 53 %）が内部品質管理を実施しており，67 試験室（全体の 43 %）が実施していなかった．また，内部品質管理のための管理試料として，33 試験室（全体の 21 %）が認証標準物質，47 試験室（全体の 30 %）が過去の共通試料を用いていた（複数回答可）．

く溶性りん酸の試験成績における内部品質管理の効果を表 10 に示した．内部品質管理を実施した場合の不満足（z-スコア>|3|）数及びその割合が 5 試験室及び 7 %に対し，実施していない場合は 8 試験室及び 14 %と高い傾向が認められた．また，内部品質管理のための管理試料として，認証標準物質又は独自の管理試料を用いた場合の不満足数及びその割合は 1 試験室又は 0 試験室及び 3 %又は 0 %と極めて良好な試験成績を示した．

なお，参考のため，肥料認証標準物質（高度化成肥料 FAMIC-A-10）のく溶性りん酸の内部品質管理試験成績を図 5 に示した．30 試験室のうち 29 試験室の試験成績が警戒線以内であり，1 試験室の試験成績が処置線以内であった．なお，処置線を超える試験成績はなかった．

表9 内部品質管理試験状況

	回答数	内部品質管理に用いた管理試料（複数回答可）		
		認証標準物質	過去の共通試料	独自の管理試料
内部品質管理試験実施	82	33	47	9
内部品質管理試験不実施	67	－	－	－
無回答	7	－	－	－

表10　内部品質管理試験状況とく溶性りん酸の試験成績

管理試料使用の有無及び管理試料の種類	試験室数		
	回答数	内不満足数	不満足の割合 (%)
使用	67	5	7
うち認証標準物質1)	33	1	3
過去の共通試料1)	32	4	13
独自の管理試料1)	7	0	0
未使用2)	58	8	14

1） 複数回答はそれぞれにカウント

2） 内部品質管理試験実施せず

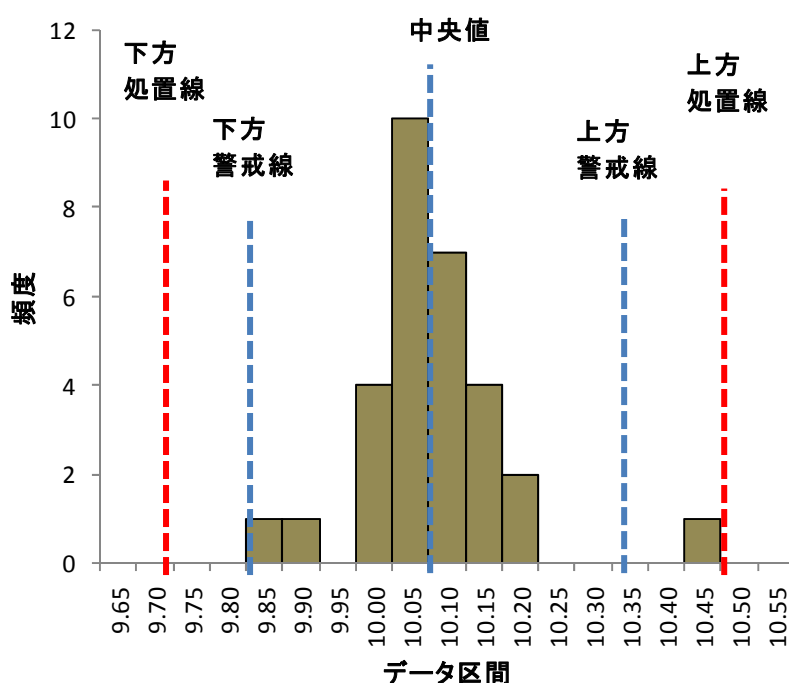



図 5　肥料認証標準物質（高度化成肥料 FAMIC-A-10）のく溶性りん酸の内部品質管理試験成績

6. 総　括

2013 年度外部精度管理のための共同試験は，化成肥料 11 成分に 143 試験室，鉱さいけい酸質肥料 3 成分に 82 試験室が参加した．各試験成績をロバスト法による z スコアを用いて評価したところ，「満足（|z|≦2）」と評価された試験室の割合は 77 %～100 %，「不満足（|z|≧3）」と評価された試験室の割合は 0 %～14 %であった．全体として平均値 Mean と中央値 Median はほぼ一致したが，一部でやや乖離した項目もみられ，外れ値の影響を受けていることが考えられた．複数の試験法による報告で 7 試験室以上が採用した方法間について平均値の差を検定したところ，W-K_2O，T-Cd 及び AL 以外の成分では方法間に有意な差は認められなかった．「不満足」が多くみられた分析成分は原子吸光法により測定される傾向がみられた．原子吸光法に限らず，機器分析を行う

際は検量線の直線性に注意するとともに，各標準液の確認を行い，日頃から分析機器の管理に注意を払われたい．また，ICP 発光分光分析法については，成分によっては「不満足」な分析値が出やすい傾向がみられたため注意する必要がある．

肥料分析は熟練を要する実験操作が多く，日々練度の向上に努める必要がある．また，試験成績の信頼性を確保するため，肥料認証標準物質を用いて内部品質管理試験を推奨する．

謝 辞

この共同試験を実施するにあたり，試料の準備・調製，均質性試験等多大なご協力を賜りました，片倉チッカリン株式会社塩釜工場及び日本電工株式会社日高工場の関係者各位に深く感謝致します．

文 献

1） ISO/IEC 17025 (2005): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories”（JIS Q 17025 :2005,「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」）
2） 農林水産消費安全技術センター（FAMIC）：肥料認証標準物質の配布申請手続き ＜http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub6.html＞
3） ISO/IEC 17043 (2010): “Conformity assessment－General requirements for proficiency testing”（JIS Q 17043 : 2011,「適合性評価－技能試験に対する一般要求事項」）
4） Thompson, M., Ellison, S.L.R., Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemical Laboratories, *Pure & Appl. Chem*., **78** (1), 145~196 (2006)
5） 農林水産省農業環境技術研究所：肥料分析法（1992 年版），日本肥糧検定協会，東京(1992)
6） Horwitz, W., Kamps, L.R., Boyer, K.W.: Quality control. Quality assurance in the analysis of foods for trace constituents, *J. AOAC Int.*, **63** (6), 1344~1354 (1980)
7） Thompson, M.: Recent Trends in Inter-laboratory Precision at ppb and sub-ppb Concentrations in Relation to Fitness for Purpose Criteria in Proficiency Testing, *Analyst*, **125**, 385~386 (2000)
8） Horwitz, W. Albert, R.: The Horwitz Ratio (HorRat): A Useful Index of Method Performance with Respect to Precision, *J. AOAC Int.*, **89** (4), 1095~1109 (2006)
9） AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix D: Guidelines for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL, (2005)
10） 越野正義：第二改訂詳解肥料分析法，p.108~114，養賢堂，東京 (1988)

Result of Proficiency Testing for Determination of Major Components and Harmful Elements in Ground Fertilizers Conducted in Fiscal Year 2013

Aiko YANO[1], Masaki CHIDA[2], Etsuko BANDO[2], Chika SUZUKI[3], Yasushi MIYASHITA[4], Shigeyuki INABA[5], Natsuki TOYODOME[6], Yuji SHIRAI[7] and Masashi UWASAWA[8]

[1] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department
(Now) Fukuoka Regional Center
[2] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sapporo Regional Center
[3] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center
[4] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Nagoya Regional Center
(Now) Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Tokai Regional Agricultural Administration Office, Food Safety and Consumer Division
[5] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center
[6] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fukuoka Regional Center
[7] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department
[8] Japan Fertilizer and Feed Inspection Association

A proficiency testing of analytical laboratories was conducted in fiscal year 2013, using reference materials of ground compound fertilizer and silicate slag fertilizer based on ISO/IEC 17043, “Conformity assessment－General requirements for proficiency testing”. Moisture (Mois.), ammonium nitrogen (A-N), citric acid-soluble phosphorus (C-P_2O_5), water-soluble phosphorus (W-P_2O_5), water-soluble potassium (W-K_2O), citric acid-soluble magnesium (C-MgO), water-soluble magnesium (W-MgO), citric acid-soluble manganese (C-MnO), citric acid-soluble boron (C-B_2O_3), total arsenic (T-As) and total cadmium (T-Cd) were analyzed using a compound fertilizer sample. Acid-soluble silicon (S-SiO_2), alkalinity (AL) and citric acid-soluble magnesium (C-MgO) were analyzed using a silicate slag fertilizer sample. Two homogenized samples were sent to the participants. From the 143 participants which received a compound fertilizer sample, 52~136 results were returned for each element. From the 82 participants which received a silicate slag fertilizer sample, 60~79 results were returned for each element. Data analysis was conducted according to the harmonized protocol for proficiency testing, revised cooperatively by the international standardizing organizations IUPAC, ISO, and AOAC International (2006). The ratios of the number of *z* scores between -2 and +2 to that of all scores were 77 %~100 % and the results from the satisfactory participants were almost normally distributed. The mean and the median of all elements slightly differed from each other. The median-NIQR plots were distributed near Horwitz curve for each element, and the HorRat values were less than 2.0 for all elements except for 3 elements. Where more than 7 results were returned, no significant distribution difference was observed between the different methods used except for 3 elements (W-K_2O, T-Cd and AL).

Key words proficiency testing, compound fertilizer, silicate slug fertilizer, harmful element, ISO/IEC 17043, ISO/IEC 17025, *z* score

(Research Report of Fertilizer, **7**, 68 ~94, 2014)

8　2013 年度 肥料認証標準物質の開発

―　高度化成肥料 FAMIC-A-13 の調製　―

加島信一[1], 八木寿治[1], 顯谷久典[2], 秋元里乃[1], 矢野愛子[3],
藤田真理子[3], 橋本良美[1], 廣井利明[1], 白井裕治[1], 久保明[1]

キーワード　認証標準物質, 高度化成肥料, 主成分,　ISO/IEC Guide 31,　ISO/IEC Guide 35,
共同試験

1. はじめに

独立行政法人農林水産消費安全技術センター（FAMIC）では, 安全な肥料の流通を確保するために立入検査を実施し, その際に収去した肥料の主成分及び有害成分の分析を実施しているが, これらの分析を行うにあたり試験法の信頼性確保が求められている. 従前より, 肥料生産事業場の品質管理室, 生産事業場からの分析依頼を受けた分析機関, 肥料検査機関等の試験室では, 試験成績の信頼性維持及び分析技術の向上のため, 管理試料又は肥料認証標準物質[1)]による内部品質管理が日常的に行われ, 更に共通試料を用いた試験室間の共同試験に参加して外部精度管理を実施している. 近年, 国際的な適合性評価の動きが進む中, 我が国においても ISO/IEC 17025:2005（JIS Q17025:2005）[2)]の要求事項を参考にした試験成績の信頼性確保の考え方が重要視されている. その要求事項において「認証標準物質の定期的な使用」及び「試験所間の比較又は技能試験プログラムへの参加」が推奨されている.

現在, FAMIC においては, 肥料認証標準物質 A（高度化成肥料）, 肥料認証標準物質 B（普通化成肥料）及び肥料認証標準物質 C（汚泥発酵肥料）を調製・販売しており, これらの調製については国際的整合性確保のため ISO Guide 34:2009（JIS Q 0034:2012）[3)]の「5 技術及び生産に関する要求事項」を参考に調製することとし, ISO Guide 35:2006（JIS Q 0035:2008）[4)]を参考に解析を行った上で ISO Guide 31:2000（JIS Q 0031:2002）[5)]を参考に認証書及びラベルを作成しているところである. 2013 年度は新たに肥料認証標準物質 A（FAMIC-A-13）を調製し, その主要な成分について 10 試験室で共同試験を実施し, 認証値の値付けをしたので, その概要を報告する.

2. 材料及び方法

1） 基材の選定

肥料認証標準物質 A の基材として, 昭光通商アグリ株式会社　高崎工場で, 尿素, 硫酸アンモニア, りん酸アンモニア, 熔成りん肥, 塩化加里, 水酸化苦土肥料, ほう酸塩肥料及び硫酸を原料として製造された市販の高度化成肥料を用いた. 基材の選定にあたっては, 普通肥料の公定規格に規定されている化成肥料であって, 成分含有量として, 窒素, りん酸及び加里をそれぞれ 10%以上含有すること, 苦土, マンガン及びほう素を保証

[1] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター 肥飼料安全検査部
[2] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター 肥飼料安全検査部 （現）農林水産省消費・安全局
[3] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター 肥飼料安全検査部 （現）福岡センター

成分として含有することを確認した．

2） 認証標準物質候補の調製

選定した肥料は、FAMIC 肥飼料安全検査部肥料調製室において超遠心粉砕機で，目開き 500 µm のふるいを通過するまで粉砕した．基材選定時と成分量が大きく変動していないことを確認後，よく混合して均質化し，約 160 g ずつ褐色ガラス瓶に小分けし，密封した．

3） 試験成分

肥料取締法に基づき，当該肥料の保証票に記載されている保証成分のうち，窒素全量，アンモニア性窒素，く溶性りん酸，水溶性加里，く溶性苦土，く溶性マンガン及びく溶性ほう素の計 7 成分を試験成分とした．また，参考として水分も試験成分とした．

表1 肥料認証標準物質候補Aの試験項目及び試験法

試験成分	試験項目番号[1]	試験法の概要	
		試料液調製方法	測定方法
水分（H_2O）	3.1.a	－	乾燥機による乾燥減量法
窒素全量（T-N）	4.1.1.a	ケルダール分解／蒸留	中和滴定法
	4.1.1.b	－	燃焼法
アンモニア性窒素（A-N）	4.1.2.b	塩酸（1+20）抽出	ホルムアルデヒド添加／中和滴定法
く溶性りん酸（C-P_2O_5）	4.2.3.a	くえん酸（20 mg/mL）抽出	バナドモリブデン酸アンモニウム発色／吸光光度法
水溶性加里（W-K_2O）	4.3.3.a	水抽出	フレーム原子吸光法又はフレーム光度法
く溶性苦土（C-MgO）	4.6.2.a	くえん酸（20 mg/mL）抽出	フレーム原子吸光法
く溶性マンガン（C-MnO）	4.7.2.a	くえん酸（20 mg/mL）抽出	フレーム原子吸光法
く溶性ほう素（C-B_2O_3）	4.8.1.a	くえん酸（20 mg/mL）抽出	アゾメチンH発色／吸光光度法

1） 肥料等試験法の試験項目番号

4） 試験方法

各試験成分の試験法として肥料等試験法[6]（表 1）を用いた．

5） 均質性確認試験

IUPAC の技能試験プロトコル[7]の均質性試験に従い，肥料認証標準物質候補 A（320 本）からランダムに 10 試料を抜き取って均質性確認試験用試料とし，それぞれの試験成分を 2 点併行でランダムな順序で試験して均質性確認試験の成績とした．

6） 共同試験

本標準物質の認証値の設定のため，10 試験室による共同試験を実施した．各試験室に共同試験用試料を 2 本配付し，それぞれの試料について日を変えて 3 点併行で試験を実施した．報告値は，く溶性マンガン及びく溶性ほう素は小数第 4 位を四捨五入して小数第 3 位まで、それ以外の成分は小数第 3 位を四捨五入して小数

第 2 位までに丸めることとした.

・共同試験参加試験室（五十音順）
　朝日工業株式会社　関東工場
　小野田化学工業株式会社　新潟工場
　コープケミカル株式会社　つくば工場
　公益財団法人　日本肥糧検定協会　本部
　独立行政法人　農林水産消費安全技術センター　神戸センター
　独立行政法人　農林水産消費安全技術センター　札幌センター
　独立行政法人　農林水産消費安全技術センター　仙台センター
　独立行政法人　農林水産消費安全技術センター　名古屋センター
　独立行政法人　農林水産消費安全技術センター　福岡センター
　独立行政法人　農林水産消費安全技術センター　本部

3. 結果及び考察

1） 均質性確認試験

均質性確認試験の成績及びその成績の一元配置による分散分析等から得られた統計量を表 2 に示した. 併行精度についてコクラン（Cochran）検定による外れ値はすべての成分において認められなかった. 次に, 一元配置による分散分析の F 検定（片側有意水準 5 %）を実施した結果, すべての試験成分について試料間に有意な差は認められなかった[7]. また, 併行相対標準偏差は, 参考として実施した水分の 4.5 %を除くと, 0.6 %～2.5 %であった.

2） 共同試験成績

各試験室から報告された共同試験成績を表 3 に示した. 各試験成分の試験成績について ISO 5725-2:1994（JIS Z 8402-2:1999）[8]を参考に統計処理することとし, 試験成績の外れ値を検出するために, コクラン（Cochran）検定及びグラッブズ（Grubbs）検定を実施し, 有意水準 1 %の外れ値を除外した.

なお, 参考までにコクラン（Cochran）検定の繰返し数と平均値及び標準偏差等の関係を表 4 に示した.

表2　均質性確認試験の結果

試験成分	試料数[1]	平均値[2] (%)[3]	s_r[4] (%)[3]	RSD_r[5] (%)	s_{bb}[6] (%)[3]	s_{b+r}[7] (%)[3]	RSD_{b+r}[8] (%)	F値[9) 10)]
水分（H_2O）	10 (0)	1.62	0.07	4.5	0.04	0.08	5.1	1.56
窒素全量（T-N）	10 (0)	14.90	0.23	1.5	0	0.23	1.5	0.32
アンモニア性窒素（A-N）	10 (0)	10.25	0.10	1.0	0.05	0.11	1.1	1.44
く溶性りん酸（C-P_2O_5）	10 (0)	10.82	0.16	1.4	0	0.16	1.4	0.47
水溶性加里（W-K_2O）	10 (0)	12.92	0.08	0.6	0	0.08	0.6	0.78
く溶性苦土（C-MgO）	10 (0)	3.15	0.03	0.8	0.01	0.03	0.8	1.09
く溶性マンガン（C-MnO）	10 (0)	0.354	0.009	2.5	0.004	0.010	2.7	1.32
く溶性ほう素（C-B_2O_3）	10 (0)	0.196	0.003	1.5	0.002	0.004	1.9	2.27

1）外れ値除外後の試料数，（）の値はCochran検定により外れ値となった試料数
2）総平均値（外れ値除外後の試料数×2点併行分析）
3）質量分率
4）併行標準偏差
5）併行相対標準偏差
6）試料間標準偏差
7）併行精度を含む試料間標準偏差　$s_{b+r} = \sqrt{{s_{bb}}^2 + {s_r}^2}$
8）併行精度を含む試料間相対標準偏差
9）一元配置分散分析により算出された分散比
10）F限界値：F (9,10:0.05)＝3.02

表3　共同試験成績　（質量分率 %）

試験室[1]	水分							窒素全量						
A	1.08	1.06	1.06	1.06	1.06	1.12		15.02	14.90	14.91	14.89	14.99	14.82	5)
B	1.41	1.42	1.43	1.46	1.44	1.43		14.85	14.89	14.81	14.89	14.79	14.98	5)
C	1.13	1.13	1.12	1.28	1.45	1.33		15.11	14.99	15.00	14.99	14.97	14.92	5)
D	1.59	1.49	1.59	1.09	1.07	1.15	3)	14.95	15.10	14.80	14.53	14.94	14.78	2),5)
E	1.60	1.55	1.48	1.59	1.61	1.48		14.81	14.76	14.77	14.83	14.84	14.80	4)
F	1.49	1.71	1.57	1.69	1.55	1.53		14.84	15.19	14.77	14.36	14.80	15.18	2),5)
G	1.54	1.62	1.58	1.63	1.78	1.79		14.86	14.91	14.88	14.80	14.85	14.77	4)
H	1.30	1.30	1.31	1.34	1.35	1.29		14.73	14.82	14.76	14.76	14.75	14.71	4)
I	1.77	1.67	1.68	1.65	1.62	1.67		14.66	14.58	14.61	14.56	14.46	14.58	4)
J	1.31	1.37	1.26	1.36	1.35	1.31		14.86	14.86	15.01	14.79	14.94	14.98	4)

1）共同試験に参加した試験室の記号（順不同）
2）コクラン（Cochran）検定による外れ値
3）表1以外の方法（水分計による乾燥減量法）で報告されたため，解析には用いなかった．
4）ケルダール法による試験
5）燃焼法による試験

表3 (続き) (質量分率 %)

試験室[1]	アンモニア性窒素							く溶性りん酸					
A	10.66	10.57	10.58	10.61	10.55	10.57		10.72	10.73	10.77	10.71	10.69	10.90
B	10.65	10.73	10.56	10.49	10.65	10.51		10.83	10.78	10.69	10.82	10.71	10.63
C	10.28	10.33	10.32	10.06	10.14	10.14		10.78	10.75	10.80	10.85	10.87	10.75
D	10.56	10.46	10.57	10.37	10.36	10.38		10.97	10.87	10.94	10.75	10.68	10.71
E	10.07	10.07	9.99	10.05	10.04	10.06		10.77	10.83	10.92	10.82	10.88	10.73
F	10.18	10.28	10.19	10.38	10.26	10.10		10.70	10.79	10.89	10.95	10.95	10.91
G	10.54	10.53	10.53	10.54	10.55	10.59		10.70	10.80	10.75	10.86	10.82	10.93
H	10.63	10.63	10.62	10.45	10.45	10.56	3)	10.81	10.79	10.77	10.69	10.73	10.78
I	10.21	10.20	10.22	10.25	10.23	10.25		10.66	10.68	10.78	10.73	10.57	10.71
J	10.31	10.28	10.40	10.30	10.37	10.39		10.83	10.82	10.83	10.78	10.80	10.80

(質量分率 %)

試験室[1]	水溶性加里							く溶性苦土						
A	13.29	13.12	12.96	13.03	12.99	12.98	5)	3.29	3.25	3.32	3.20	3.20	3.13	
B	13.02	12.84	12.79	13.13	13.02	12.93	4)	3.29	3.20	3.22	3.03	3.14	3.10	2)
C	13.24	13.57	13.39	13.21	13.06	13.17	4)	3.23	3.27	3.26	3.22	3.17	3.17	
D	13.15	13.10	13.27	13.25	13.27	13.31	4)	3.11	3.11	3.15	3.11	3.17	3.09	
E	12.87	12.85	12.88	12.86	12.83	12.80	4)	3.36	3.40	3.37	3.41	3.36	3.35	
F	12.89	13.03	12.91	13.02	12.98	13.04	4)	3.16	3.15	3.12	3.21	3.19	3.18	
G	13.19	13.14	13.19	13.08	13.04	13.06	5)	3.16	3.20	3.18	3.23	3.25	3.22	
H	13.24	13.13	13.14	13.16	13.19	13.17	4)	3.19	3.20	3.25	3.20	3.22	3.18	
I	13.07	13.09	13.05	12.84	12.91	12.98	4)	2.96	2.90	3.00	2.94	2.91	2.92	
J	13.12	13.11	13.07	13.07	13.06	13.13	4)	3.13	3.23	3.16	3.10	3.16	3.19	

(質量分率 %)

試験室[1]	く溶性マンガン						く溶性ほう素					
A	0.383	0.365	0.395	0.352	0.367	0.358	0.210	0.215	0.218	0.213	0.212	0.217
B	0.342	0.345	0.351	0.310	0.364	0.339	0.201	0.203	0.199	0.200	0.210	0.204
C	0.382	0.391	0.392	0.362	0.349	0.349	0.198	0.201	0.200	0.194	0.193	0.193
D	0.320	0.321	0.336	0.342	0.359	0.333	0.199	0.202	0.206	0.199	0.200	0.204
E	0.344	0.340	0.337	0.341	0.336	0.340	0.210	0.208	0.211	0.207	0.209	0.209
F	0.345	0.345	0.354	0.347	0.351	0.358	0.187	0.191	0.195	0.199	0.199	0.200
G	0.353	0.350	0.357	0.359	0.360	0.356	0.194	0.195	0.186	0.188	0.188	0.183
H	0.375	0.371	0.371	0.361	0.378	0.363	0.215	0.222	0.211	0.216	0.208	0.214
I	0.345	0.364	0.361	0.381	0.369	0.370	0.201	0.199	0.201	0.212	0.209	0.217
J	0.366	0.358	0.371	0.346	0.365	0.359	0.191	0.193	0.202	0.199	0.190	0.201

1) 共同試験に参加した試験室の記号(順不同)
2) コクラン(Cochran)検定による外れ値
3) 表1以外の方法(蒸留法)で報告されたため, 解析には用いなかった.
4) 原子吸光法による試験
5) フレーム光度法による試験

表4　外れ値数が共同試験成績の解析結果に及ぼす影響

試験成分	C[1]	G[2]	有効データ数 p	認証値（平均値）	拡張不確かさ（包含係数 k=2）	室間再現標準偏差 s_R	室内標準偏差 s_W
				(%)[4]	(%)[4]	(%)[4]	(%)[4]
水分（H_2O）	0	0	9	1.43	± 0.14	0.216	0.072
窒素全量（T-N）	0	0	10	14.84	± 0.07	0.163	0.128
	1	0	9	14.84	± 0.08	0.144	0.087
	2	0	8	14.83	± 0.09	0.140	0.062
アンモニア性窒素（A-N）	0	0	9	10.36	± 0.13	0.207	0.072
く溶性りん酸（C-P_2O_5）	0	0	10	10.79	± 0.03	0.086	0.077
水溶性加里（W-K_2O）	0	0	10	13.07	± 0.08	0.158	0.096
く溶性苦土（C-MgO）	0	0	10	3.18	± 0.07	0.117	0.048
	1	0	9	3.18	± 0.08	0.121	0.040
く溶性マンガン（C-MnO）	0	0	10	0.356	± 0.009	0.0176	0.0123
く溶性ほう素（C-B_2O_3）	0	0	10	0.203	± 0.005	0.0094	0.0045

1）コクラン（Cochran）検定による外れ値の数
2）グラッブス（Grubbs）検定による外れ値の数
3）（網掛け）採用行
4）質量分率

3） 共同試験成績の評価

外れ値を除外した試験成績より算出した平均値，室内標準偏差（s_W ：同一試験室で日を変えて試験を実施していることから、日間変動を含む），室間再現標準偏差（s_R），室間再現相対標準偏差（RSD_R）及び参考として室間再現 HorRat 値（$HorRat_R$）を表 5 に示した．肥料の分野では RSD_R の評価基準が無いため，食品分野において分析方法の精度の評価をするために用いられている $HorRat_R$ を RSD_R/$PRSD_R$ より求めた[9]．なお， $PRSD_R$（室間再現相対標準偏差の予測値）は平均値をHorwitz式[10]に代入して求めた．求めた $HorRat_R$は，水分を除くすべての試験成分においてコーデックス委員会の分析精度の受け入れ基準[11]である 2 以下であった．

表5　共同試験成績の解析結果

試験成分	試験室数[1]	平均値[2] (%)[8]	s_W[3] (%)[8]	s_R[4] (%)[8]	RSD_R[5] (%)	$PRSD_R$[6] (%)	$HorRat_R$[7]
水分（H_2O）	9	1.43	0.07	0.22	15.1	3.8	3.99
窒素全量（T-N）	8	14.83	0.06	0.14	0.9	2.7	0.35
アンモニア性窒素（A-N）	9	10.36	0.07	0.21	2.0	2.8	0.71
く溶性りん酸（C-P_2O_5）	10	10.79	0.08	0.09	0.8	2.8	0.29
水溶性加里（W-K_2O）	10	13.07	0.10	0.16	1.2	2.7	0.45
く溶性苦土（C-MgO）	9	3.18	0.04	0.12	3.8	3.4	1.13
く溶性マンガン（C-MnO）	10	0.356	0.012	0.018	4.9	4.7	1.06
く溶性ほう素（C-B_2O_3）	10	0.203	0.004	0.009	4.7	5.1	0.92

1） 解析に用いた試験室数
2） 平均値（データ数=試験室数×併行試験数（3）×試験日数（2））
3） 室内標準偏差（日間変動を含む）
4） 室間再現標準偏差
5） 室間再現相対標準偏差
6） 室間再現相対標準偏差の予測値
7） 室間再現HorRat値
8） 質量分率

4) 認証値及び不確かさ

ISO Guide 31:2000（JIS Q 0031:2002）[5)]において認証標準物質の認証書の必須内容として要求されている認証値及び不確かさを表 6 に示した．また，ISO Guide 33:2000（JIS Q 0033:2002）[12)]において肥料認証標準物質の使用にあたり必要となる参考データ（共同試験における室内標準偏差，室間再現標準偏差及び解析に用いた試験室数）を同表に示した．

（1） 拡張不確かさの算出方法

共同試験の総平均値の標準不確かさ u は ISO/TS 21748:2004（JIS Z 8404-1:2006）[13]に従い，共同試験の室内標準偏差（s_{W}），室間再現標準偏差（s_{R}），試験室数（p =8～10）及び各試験室での繰返し試験数（n =6）から，(a)式により求めた．平均値の不確かさは，拡張不確かさとし，標準不確かさ（u）に包含係数（k）を乗じて求め（(b)式），有効数字 2 けた以内に丸めた．なお，包含係数（k）については正規分布の信頼水準約 95 %に相当する k =2 とした．

$$標準不確かさ(u) = \sqrt{\frac{\left({s_{\mathrm{R}}}^2 - {s_{\mathrm{W}}}^2\right) + \frac{{s_{\mathrm{W}}}^2}{n}}{p}} \qquad \cdots(\mathrm{a})$$

$$拡張不確かさ(U_{95\,\%}) = k \times u \qquad \cdots(\mathrm{b})$$

s_{R}： 室間再現標準偏差
s_{W}： 室内標準偏差
n： 共同試験の室内繰返し試験数($n = 6$)
p： 共同試験の試験室数
k： 包含係数($k = 2$)

（2） 認証値の決定方法

水分についてはこれまで安定性の確認ができていないことから認証せずに参考情報として提供し，その他の試験成分（窒素全量，アンモニア性窒素，く溶性りん酸，水溶性加里，く溶性苦土，く溶性マンガン及びく溶性ほう素）を認証することとした．なお，認証値は共同試験の平均値を拡張不確かさのけた数に丸めて[14)]表示した．

表6 認証書に記載する項目

試験成分	認証する項目		参考データ		
	認証値 (%)[5]	拡張不確かさ[1] (%)[5]	s_W[2] (%)[5]	s_R[3] (%)[5]	試験室数[4]
水分(H_2O)[6]	1.43	0.14	0.07	0.22	9
窒素全量（T-N）	14.83	0.09	0.06	0.14	8
アンモニア性窒素（A-N）	10.36	0.13	0.07	0.21	9
く溶性りん酸（C-P_2O_5）	10.79	0.03	0.08	0.09	10
水溶性加里（W-K_2O）	13.07	0.08	0.10	0.16	10
く溶性苦土（C-MgO）	3.18	0.08	0.04	0.12	9
く溶性マンガン（C-MnO）	0.356	0.009	0.012	0.018	10
く溶性ほう素（C-B_2O_3）	0.203	0.005	0.004	0.009	10

1） 包含係数（k =2）
2） 室内標準偏差
3） 室間再現標準偏差
4） 解析に用いた試験室数
5） 質量分率
6） 参考情報として提供

5） 肥料認証標準物質の有効期限

前ロットの肥料認証標準物質 FAMIC-A-10（高度化成肥料）の有効期限は，長期安定性の評価のための試験結果から 2 年 6 ヶ月から 4 年 6 ヶ月に延長された[15]．本肥料認証標準物質候補 A と FAMIC-A-10 とを比較した場合に，原料，製造方法が同等であることから，安定性も同等と判断された。これにより、本肥料認証標準物質候補 A の有効期限を 4 年半後の 2018 年 6 月末に設定することとした.

また，販売開始後も継続的に安定性モニタリングを実施し，安定性に問題があった成分については，認証値から参考値にするなどの処置を行うこととした.

4. まとめ

2013 年度は肥料認証標準物質として高度化成肥料 FAMIC-A-13 を調製し，その認証値（窒素全量，アンモニア性窒素，く溶性りん酸，水溶性加里，く溶性苦土，く溶性マンガン及びく溶性ほう素）の決定のための共同試験を行い，ISO Guide 35:2006（JIS Q 0035:2008）[4]を参考に解析し，ISO Guide 31:2000（JIS Q 0031:2002）[5]の要求事項に基づいて認証書及びラベルを作成した．これらのことについて，肥料等技術検討会肥料認証標準物質調製部会（2014 年 1 月 23 日）の審議を受け，2014 年 4 月より肥料認証標準物質 A の販売を開始した.

肥料の認証標準物質は，国内には他に作成している例はない．更に，国外で利用されている肥料認証標準物質は我が国の特有の肥料成分及びその試験方法が網羅されておらず，また，我が国向けの肥料認証標準物質も作成されていない．このような観点から，この肥料認証標準物質が肥料分析の信頼性確保に貢献するところは大きいものと期待される.

謝 辞

肥料認証標準物質の開発において，独立行政法人農業･食品産業技術総合研究機構食品総合研究所安井明美博士及び内藤成弘博士，独立行政法人産業技術総合研究所黒岩貴芳室長，公益財団法人日本肥糧検定協会上沢正志博士び全国農業協同組合連合会日高秀俊調査役には，ご指導いただき感謝いたします.

また，共同試験にご協力いただいた朝日工業株式会社関東工場，小野田化学工業株式会社新潟工場，コープケミカル株式会社つくば工場及び公益財団法人日本肥糧検定協会本部の各位に謝意を表します．

文　献

1） 独立行政法人農林水産消費安全技術センター（FAMIC）：肥料認証標準物質の配布申請手続き <http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub6.html>

2） ISO/IEC 17025 (2005): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories”（JIS Q 17025: 2006，「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」）

3）ISO Guide 34 (2009): “General requirements for the competence of reference material producers”（JIS Q 0034: 2012，「標準物質生産者の能力に関する一般要求事項」）

4）ISO Guide 35 (2006): “Reference materials－General and statistical principles for certification”（JIS Q 0035: 2008，「標準物質－認証のための一般的及び統計学的な原則」）

5） ISO Guide 31 (2000): “Reference materials－Contents of certificates and labels”（JIS Q 0031: 2002，「標準物質－認証書及びラベルの内容」）

6） 独立行政法人農林水産消費安全技術センター（FAMIC）：肥料等試験法 <http://www.famic.go.jp/ffis/fert/ sub9.html>

7） Thompson, M., R. Ellison, S. Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemical Laboratories, *Pure & Appl. Chem*., **78** (1), 145~196（2006）

8） ISO 5725-2 (1994): “Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results－Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of standard measurement method”（JIS Z 8402-2: 1999，「測定方法及び測定結果の精確さ（真度及び精度）－第 2 部：標準測定方法の併行精度及び再現精度を求めるための基本方法」）

9）AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix D: Guideline for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg (2005)

10）Thompson, M.: Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing, *Analyst*, **125**, 385~386 (2000)

11） Codex Alimentarius:CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION PROCEDURAL MANUAL Twentieth edition, p66 (2011)

12）ISO Guide 33 (2000): “Uses of certified reference materials”（JIS Q 0033: 2002，「認証標準物質の使い方」）

13） ISO/TS 21748 (2004): “Measurement uncertainty-Part 1:Guidance for the use of repeatability reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty estimation”（JIS Z 8404-1 :2006，「測定の不確かさ-第 1 部：測定の不確かさの評価における併行精度，再現精度及び真度の推定値の利用の指針」）

14） ISO 31-0 (1992): “Quantities and units－Part 0: General principles, Annex B (Informative) (Guide to the rounding of numbers)”（JIS Z 8401 : 1999，「数値の丸め方」）

15） 廣井利明，秋元里乃，八木寿治，坂東悦子，惠智正宏，山西正将，白井裕治，柴田政人：2011 年度 肥料認証標準物質の開発 ―高度化成肥料 FAMIC-A-10，普通化成肥料 FAMIC-B-10 及び汚泥発酵肥料 FAMIC-C-09 の長期安定性試験―，肥料研究報告，**5**，90~100 (2012)

Preparation of Certified Reference Material (CRM) for Determination of Major Components: High-anlysis Compound Fertilizer (FAMIC-A-13)

Shinichi KASHIMA[1], Toshiharu YAGI[1], Hisanori ARAYA[2], Satono AKIMOTO[1], Aiko YANO[3], Mariko FUJITA[3], Yoshimi HASHIMOTO[1], Toshiaki HIROI[1], Yuji SHIRAI[1] and Akira KUBO[1]

[1] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

[2] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department
(Now) Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Food Safety and Consumer Affairs Bureau

[3] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department
(Now） Fukuoka Regional Center

Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC) has developed a certified reference material (CRM): high-analysis compound fertilizer (FAMIC-A-13), for analysis of major components. FAMIC-A-13 was certified for the contents of total nitrogen (T-N), ammonium nitrogen (A-N), citric acid-soluble phosphoric acid (C-P_2O_5), water-soluble potassium (W-K_2O), citric acid-soluble magnesium (C-MgO), citric acid-soluble manganese (C-MnO) and citric acid-soluble boron (C-B_2O_3). The certified values were obtained from a statistical analysis of the results of a collaborative study on the chemical analysis of the candidate for CRM. Ten laboratories participated in this study. In a statistical analysis of data which were reported from participants, outliers were removed by Cochran test and Grubbs test, followed by the usual statistical procedure. The CRMs were expected to be useful for the quality assurance and the quality control in the analysis of major components in high-analysis compound fertilizer.

Key words certified reference material (CRM), high-analysis compound fertilizer, major component, ISO Guide 31, ISO Guide 35, collaborative study

(Research Report of Fertilizer, **7**, 95~104, 2014)

9　2013 年度 肥料認証標準物質の開発

－高度化成肥料 FAMIC-A-10，普通化成肥料 FAMIC-B-10
及び汚泥発酵肥料 FAMIC-C-12 の長期安定性評価－

稲葉茂幸[1]，木村康晴[1]，藤田　卓[1]，青山恵介[1]，
伊藤浩平[2]，長谷川正憲[1]，白井裕治[3]

キーワード　認証標準物質，化成肥料，汚泥発酵肥料，主成分，有害成分，
ISO Guide 31，ISO Guide 35，長期安定性，モニタリング試験

1. はじめに

安全な肥料の流通を確保するために独立行政法人農林水産消費安全技術センター（FAMIC）が行っている立入検査において収去した肥料の主成分および有害成分の分析は不可欠であり，その試験法には信頼性の確保が求められている．従前から，肥料生産事業場の品質管理室，生産事業場から分析依頼を受けた民間分析機関，肥料検査機関等の試験所では，試験成績の信頼性維持及び分析技術の向上のために管理用試料又は肥料認証標準物質[1)]による内部品質管理が日常的に行われている．近年国際的な適合性評価の動きが進む中，我が国においても ISO/IEC 17025:2005（JIS Q 17025:2005）[2)]の要求事項を参考にした試験成績の信頼性確保の考え方が重要視されている．その要求事項には，「認証標準物質の定期的な使用」を実施することが推奨されている．

また，FAMIC においては，肥料認証標準物質 A（高度化成肥料 FAMIC-A-10），同 B（普通化成肥料 FAMIC-B-10）及び同 C（汚泥発酵肥料 FAMIC-C-12）（以下，それぞれ「標準物質 A」「標準物質 B」「標準物質 C」という．）を調製[3, 4)]，販売しており（表 1），これらの調製については国際的整合性確保のため ISO Guide 34:2009（JIS Q 0034:2012）[5)]の「5 技術及び生産に関する要求事項」を参考に調製することとし，ISO Guide 35:2006（JIS Q 0035:2008）[6)]を参考に解析を行った上で ISO Guide 31:2000（JIS Q 0031:2002）[7)]を参考に認証書及びラベルを作成しているところである．2013 年度は，2013 年 1 月に有効期限の延長を行った標準物質 A 及び標準物質 B 並びに 2012 年 11 月に認証を行った標準物質 C の長期安定性について，在庫試料を用い認証値設定時からの認証成分のモニタリングを実施したので，その概要を報告する．

2. 材料及び方法

1） 安定性のモニタリング

（1） 試験計画

ISO Guide 35:2006（JIS Q 0035:2008）[6)]では，認証標準物質の保管期間中，モニタリングを実施して安定性を確認することが望まれている．安定性の検討については，終了時点でのデータを提供する同時期測定型安定

[1] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター
[2] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター （現）肥飼料安全検査部
[3] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

性試験及び保存期間中にデータが得られる従来型安定性試験の二つの基本的実験方法がある. 同時に調製した認証標準物質の保存期間の経時的なデータが必要なことから, 後者の方法を長期安定性のモニタリングの方法として選択した. この従来型安定性試験を実施するため, 次の a）～f）を FAMIC 神戸センターで計画した.

a）分析用試料･･･標準物質 A, B 及び C の在庫から, それぞれランダムに 1 本を抜き取った試料.

b）試験成分･･･認証されたすべての成分（表 1 参照）.

c）試験方法･･･認証値設定の共同試験で使用された肥料等試験法[8]（表 2A, 表 2B 及び表 2C を参照）.

d）試験時期･･･標準物質 A 及び B は、認証値設定のための共同試験実施後における認証値設定時, 12 ヶ月後, 20 ヶ月後, 24 ヶ月後, 28 ヶ月後, 32 ヶ月後及び 38 ヶ月後. 標準物質 C は, 認証値設定のための共同試験実施後における認証値設定時, 8 ヶ月後及び 14 ヶ月後.

e）試験室･･･単一試験室（FAMIC 神戸センター）.

f）安定性の評価･･･分析時の調製日から経過時間（月数）及びその測定時の分析値の平均値について, JIS Q 0035:2008 付属書 B.5 を参考に解析.

表 1　肥料認証標準物質の概要

名称（種類）	原料組成	認証成分	有効期限
FAMIC-A-10（高度化成肥料）	尿素, 硫酸アンモニア, りん酸アンモニア, 塩化加里, 副産苦土肥料, 熔成微量要素複合肥料, りん酸, アンモニア	窒素全量, アンモニア性窒素, く溶性りん酸, 水溶性加里, く溶性苦土, く溶性マンガン, く溶性ほう素（全7成分）	2015年6月末(2014年3月末販売終了)
FAMIC-B-10（普通化成肥料）	硫酸アンモニア, 過りん酸石灰, 塩化加里	アンモニア性窒素, 可溶性りん酸, 水溶性りん酸, 水溶性加里, ひ素, カドミウム, 水銀, ニッケル, 鉛（全9成分）	2015年6月末
FAMIC-C-12（汚泥発酵肥料）	下水汚泥, 食品工業汚泥, 動物質原料	窒素全量, りん酸全量, 加里全量, 銅全量, 亜鉛全量, 石灰全量, 有機炭素, ひ素, カドミウム, 水銀, ニッケル, クロム, 鉛 （全13成分）	2016年6月末

（2） モニタリングの実施

FAMIC 神戸センターにおいて標準物質 A 及び標準物質 B を 2010 年 7 月～9 月, 2011 年 7 月～9 月, 2012 年 4 月～5 月, 2012 年 7 月～9 月, 2012 年 12 月～2013 年 1 月, 2013 年 4 月～5 月及び 2013 年 10 月～11 月の計 7 回, 標準物質 C を 2012 年 8 月～10 月, 2013 年 4 月～5 月及び 2013 年 10 月～11 月の計 3 回試験を実施した.

各試験時とも未開封の標準物質 A, 標準物質 B 及び標準物質 C 各 1 瓶を用いて, 試験成分毎に 2 点併行試験を行った.

報告値の桁数は, 標準物質 A, B については, 有害成分（As, Cd, Hg, Ni, Pb）, C-MnO 及び C-B_2O_3 の試験成績は有効数字 3 桁, それ以外の成分は, 小数点以下 2 桁とした. 標準物質 C については, T-Cu 及び T-Zn の試験成績は整数, それ以外の成分は, 有効数字 3 桁とした. また, 報告値は, 現状の認証値と同様に水分換算しない濃度（有姿濃度）とした.

表2A 標準物質Aの試験成分及び試験方法

試験成分	試験項目番号[1)]	試験法の概要	
		試料液調製方法	測定方法
窒素全量（T-N）	4.1.1.a	ケルダール分解－蒸留	中和滴定法
	4.1.1.b	－	燃焼法
アンモニア性窒素（A-N）	4.1.2.b	塩酸（1+20）抽出	ホルムアルデヒド添加／中和滴定法
く溶性りん酸（C-P_2O_5）	4.2.3.a	くえん酸（20 mg/mL）抽出	バナドモリブデン酸アンモニウム発色／吸光光度法
水溶性加里（W-K_2O）	4.3.3.a	水抽出	フレーム原子吸光法又はフレーム光度法
く溶性苦土（C-MgO）	4.6.2.a	くえん酸（20 mg/mL）抽出	フレーム原子吸光法
く溶性マンガン（C-MnO）	4.7.2.a	くえん酸（20 mg/mL）抽出	フレーム原子吸光法
く溶性ほう素（C-B_2O_3）	4.8.1.a	くえん酸（20 mg/mL）抽出	アゾメチンH発色／吸光光度法

1） 肥料等試験法の試験項目番号

表2B 標準物質Bの試験成分及び試験方法

試験成分	試験項目番号[1)]	試験法の概要	
		試料液調製方法	測定方法
アンモニア性窒素（A-N）	4.1.2.a	蒸留	中和滴定法
可溶性りん酸（S-P_2O_5）	4.2.2.a	水抽出／ペーテルマンくえん酸塩溶液抽出	バナドモリブデン酸アンモニウム発色／吸光光度法
水溶性りん酸（W-P_2O_5）	4.2.4.a	水抽出	バナドモリブデン酸アンモニウム発色／吸光光度法
水溶性加里（W-K_2O）	4.3.3.a	水抽出	フレーム原子吸光法又はフレーム光度法
ひ素（As）	5.2.a	硫酸－硝酸－過塩素酸分解	水素化物発生原子吸光法
カドミウム（Cd）	5.3.a	王水分解	フレーム原子吸光法
水銀（Hg）	5.1.a	硝酸－過塩素酸分解	還元気化原子吸光法
ニッケル（Ni）	5.4.a	王水分解	フレーム原子吸光法
鉛（Pb）	5.6.a	王水分解	フレーム原子吸光法

脚注は表2Aを参照

表2C 標準物質Cの試験成分及び試験方法

試験成分	試験項目番号[1)]	試験法の概要	
		試料液調製方法	測定方法
窒素全量（T-N）	4.1.1.a	ケルダール分解－蒸留	中和滴定法
	4.1.1.b	－	燃焼法
りん酸全量（T-P_2O_5）	4.2.1.a	ケルダール硫酸分解／王水分解	バナドモリブデン酸アンモニウム発色／吸光光度法
加里全量（T-K_2O）	4.3.1.a	王水分解／塩酸煮沸	フレーム原子吸光法又はフレーム光度法
石灰全量（T-CaO）	4.5.1.a	王水分解／塩酸煮沸	フレーム原子吸光法
有機炭素（O-C）	4.11.1.a	二クロム酸酸化	酸化還元滴定法
銅全量（T-Cu）	4.10.1.a	王水分解	フレーム原子吸光法
亜鉛全量（T-Zn）	4.9.1.a	王水分解	フレーム原子吸光法
ひ素（As）	5.2.a	硫酸－硝酸－過塩素酸分解	水素化物発生原子吸光法
カドミウム（Cd）	5.3.a	王水分解	フレーム原子吸光法
水銀（Hg）	5.1.a	硝酸－過塩素酸分解	還元気化原子吸光法
ニッケル（Ni）	5.4.a	王水分解	フレーム原子吸光法
クロム（Cr）	5.5.a	王水分解	フレーム原子吸光法
鉛（Pb）	5.6.a	王水分解	フレーム原子吸光法

脚注は表2Aを参照

3. 結果及び考察

1） 安定性のモニタリング

（1） モニタリング成績

標準物質 A，標準物質 B 及び標準物質 C の試験成分の安定性試験成績を表 3 に示した．ISO/IEC 17025:2005（JIS Q 17025:2006）[2)]では，認証標準物質を用いて試験所の日常の内部品質管理又は試験所が開発した試験方法の妥当性確認を実施することが推奨されている．FAMIC では，肥料認証標準物質を用いた試験成績の真度評価を実施している．標準物質 A 及び標準物質 B の試験期間の 38 ヶ月後並びに標準物質 C の試験期間の 14 ヶ月後までに実施した各経過月及び各試験成分の試験成績の平均値を図 1A～図 1C に示し，更に警戒線及び処置線を描いた．なお，内部品質管理のために実施した併行試験の繰返し数（n）並びに認証値（μ），室内標準偏差（s_{W}）及び室間再現標準偏差（s_{R}）を用いて（a）式，（b）式及び（c）式により，技能評価のための標準偏差，警戒線及び処置線を求めた[9)]．その結果，標準物質 A，標準物質 B 及び標準物質 C の安定性試験成績の平均値は，いずれの試験成分も警戒線の範囲内であった．

$$\text{技能評価のための標準偏差}(\sigma) = \sqrt{(s_{\mathrm{R}}{}^2 - s_{\mathrm{W}}{}^2) + \frac{s_{\mathrm{W}}{}^2}{n}} \quad \cdots \text{(a)}$$

$$\text{平均値に対する警戒線} = \mu \pm 2\sigma \quad \cdots \text{(b)}$$

$$\text{平均値に対する処置線} = \mu \pm 3\sigma \quad \cdots \text{(c)}$$

n： 繰返し試験数　　s_R： 室間再現標準偏差

s_W： 室内標準偏差　　μ： 認証値

表3A 認証標準物質Aの安定性モニタリング試験成績　（質量分率 %）

経過月	窒素全量 (T-N)		アンモニア性窒素（A-N）		く溶性りん酸 ($C-P_2O_5$)		水溶性加里 ($W-K_2O$)	
0	14.83	14.95	10.59	10.62	10.09	10.14	13.18	13.56
12	14.80	14.80	10.78	10.90	10.11	10.14	13.63	13.72
20	14.77	14.91	10.89	10.91	9.88	10.23	13.70	13.74
24	14.50	14.53	10.69	10.75	9.96	10.04	13.48	13.83
28	14.62	14.63	10.71	10.74	10.01	10.06	13.64	13.75
32	14.55	14.56	10.72	10.75	10.07	10.07	13.45	13.56
38	14.69	14.70	10.70	10.73	9.99	10.04	13.36	13.48

表3A （続き）　（質量分率 %）

経過月	く溶性苦土 (C-MgO)		く溶性マンガン (C-MnO)		く溶性ほう素 ($C-B_2O_3$)	
0	3.20	3.44	0.389	0.414	0.204	0.210
12	3.29	3.35	0.397	0.398	0.200	0.206
20	3.30	3.41	0.388	0.388	0.208	0.210
24	3.32	3.38	0.397	0.400	0.211	0.217
28	3.33	3.36	0.412	0.420	0.213	0.218
32	3.28	3.44	0.385	0.389	0.198	0.219
38	3.44	3.44	0.397	0.406	0.203	0.218

表3B 認証標準物質Bの安定性モニタリング試験成績　（質量分率 %）

経過月	アンモニア性窒素（A-N）		可溶性りん酸 ($S-P_2O_5$)		水溶性りん酸 ($W-P_2O_5$)		水溶性加里 ($W-K_2O$)	
0	8.33	8.49	7.99	8.03	6.88	6.94	8.59	8.75
12	8.27	8.30	8.11	8.11	7.01	7.01	8.81	8.84
20	8.24	8.31	8.08	8.09	6.99	7.00	8.65	8.70
24	8.17	8.18	8.09	8.17	6.96	6.98	9.02	9.04
28	8.32	8.33	8.14	8.17	6.94	6.96	8.96	9.05
32	8.21	8.22	8.16	8.17	6.94	6.98	8.64	8.68
38	8.36	8.39	8.02	8.08	7.00	7.01	8.71	8.79

表3B （続き）　(mg/kg)

経過月	ひ素 (As)		カドミウム (Cd)		水銀 (Hg)		ニッケル (Ni)		鉛 (Pb)	
0	2.60	2.63	5.83	5.84	0.881	0.890	42.4	45.5	23.7	23.7
12	2.32	2.48	5.93	5.95	0.885	0.889	47.3	47.3	25.8	26.9
20	2.25	2.25	5.86	5.89	0.856	0.871	44.8	45.6	24.8	26.9
24	2.38	2.39	5.99	6.01	0.891	0.892	45.1	46.5	25.7	26.3
28	2.27	2.32	5.87	5.99	0.933	0.945	46.8	46.9	21.5	22.9
32	2.28	2.34	5.82	5.82	0.888	0.916	43.6	44.8	24.6	25.6
38	2.34	2.42	5.76	5.85	0.868	0.873	46.1	46.1	21.6	25.9

表3C　標準物質Cの安定性モニタリング試験成績　（質量分率 %）

経過月	窒素全量（T-N）		りん酸全量（$T-P_2O_5$）		加里全量（$T-K_2O$）		石灰全量（T-CaO）		有機炭素（O-C）	
0	4.77	4.79	8.64	8.64	0.607	0.619	5.99	6.03	20.4	20.6
8	4.57	4.75	8.46	8.49	0.553	0.561	5.76	5.82	20.0	20.1
14	4.71	4.78	8.52	8.53	0.560	0.564	6.03	6.08	20.1	20.9

表3C （続き）　(mg/kg)

経過月	銅全量（T-Cu）		亜鉛全量（T-Zn）		ひ素（As）		カドミウム（Cd）	
0	583	587	963	991	22.1	22.5	1.81	1.84
8	575	591	991	992	19.2	20.3	1.83	1.85
14	567	586	1,015	1,015	20.7	21.1	1.79	1.82

表3C （続き）　(mg/kg)

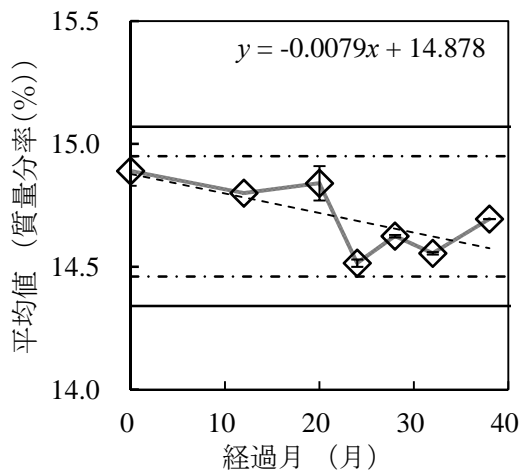
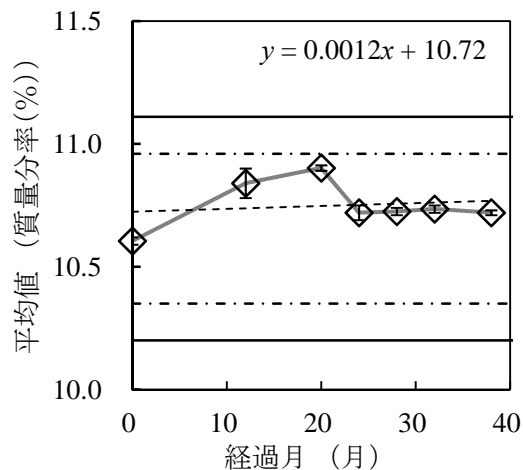
経過月	水銀（Hg）		ニッケル（Ni ）		クロム（Cr）		鉛（Pb）	
0	0.464	0.470	73.3	74.3	78.6	81.2	36.4	36.5
8	0.448	0.478	74.2	74.6	80.5	80.5	35.1	35.1
14	0.443	0.473	78.3	78.7	75.4	79.4	36.1	36.9

1. 標準物質A（窒素全量）

2. 標準物質A（アンモニア性窒素）

図 1A　標準物質 A のモニタリング試験成績

◇:平均値　エラーバー:測定値の幅　破線:回帰直線

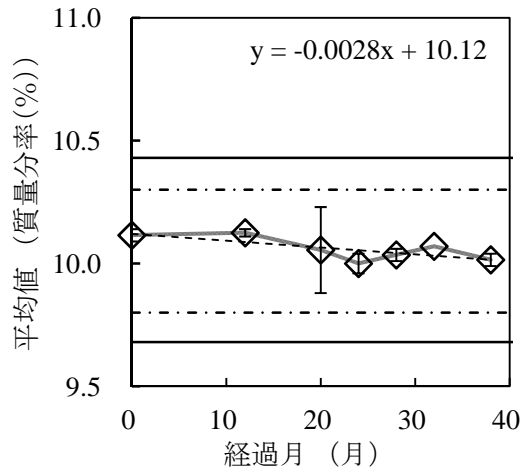
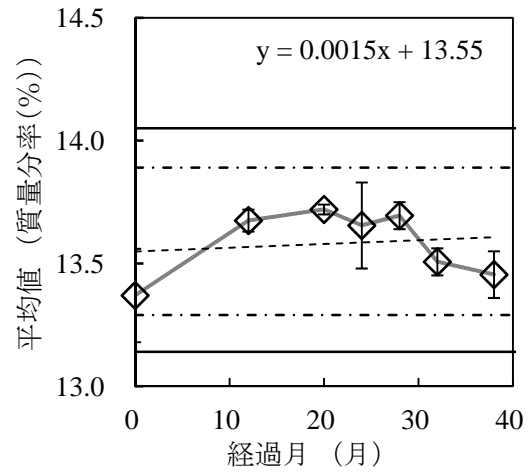
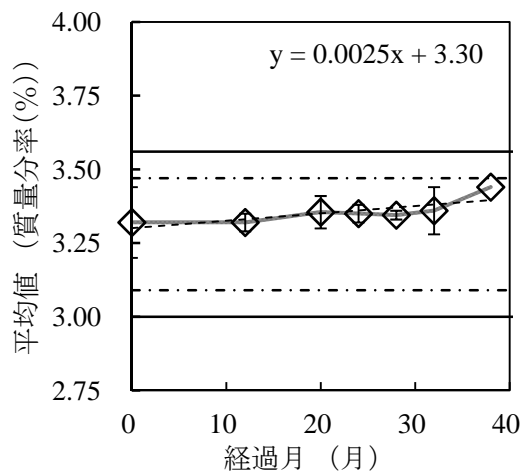
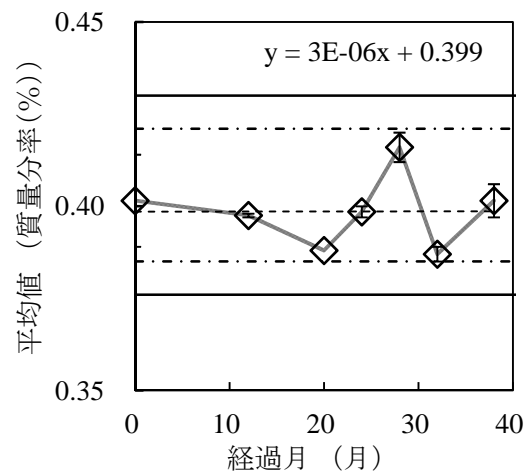
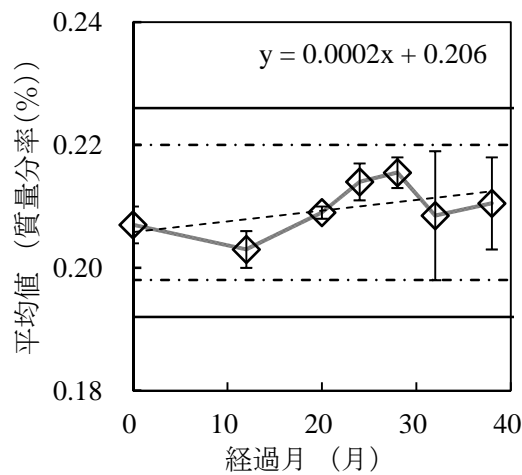
実線:上下処置線　一点鎖線:上下警戒線

y = -0.0028x + 10.12
平均値 (質量分率(%))
経過月 (月)
3. 標準物質A(く溶性りん酸)
y = 0.0015x + 13.55
平均値 (質量分率(%))
経過月 (月)
4. 標準物質A(水溶性加里)
y = 0.0025x + 3.30
平均値 (質量分率(%))
経過月 (月)
5. 標準物質A(く溶性苦土)
y = 3E-06x + 0.399
平均値 (質量分率(%))
経過月 (月)
6. 標準物質A(く溶性マンガン)
y = 0.0002x + 0.206
平均値 (質量分率(%))
経過月 (月)
7. 標準物質A(く溶性ほう素)

図 1A (続き)

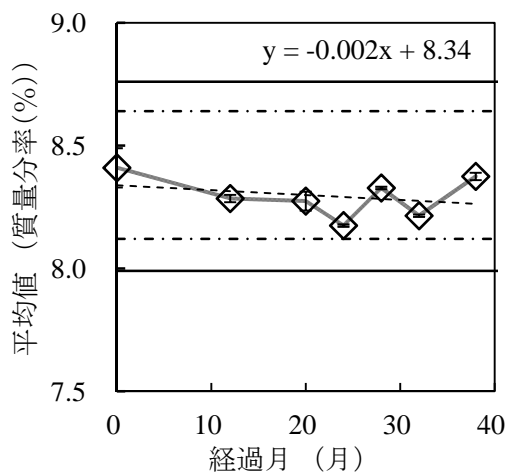
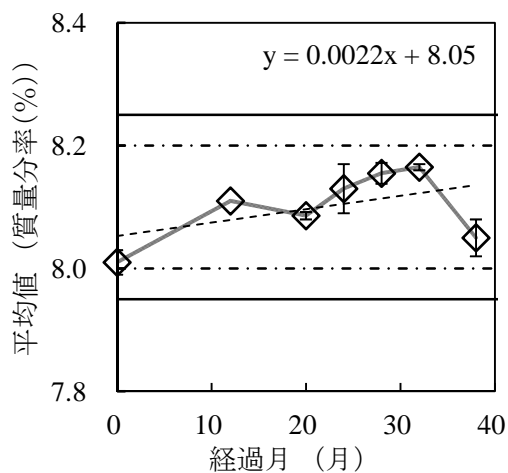
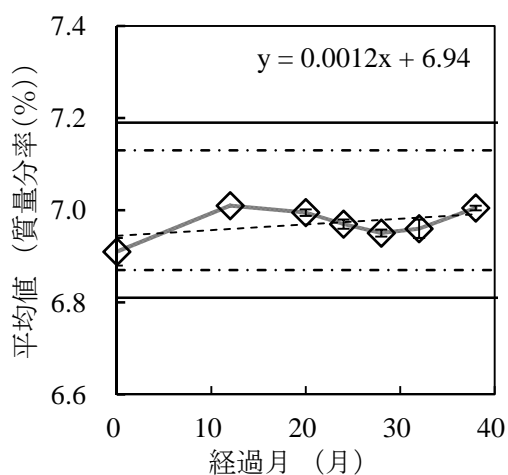
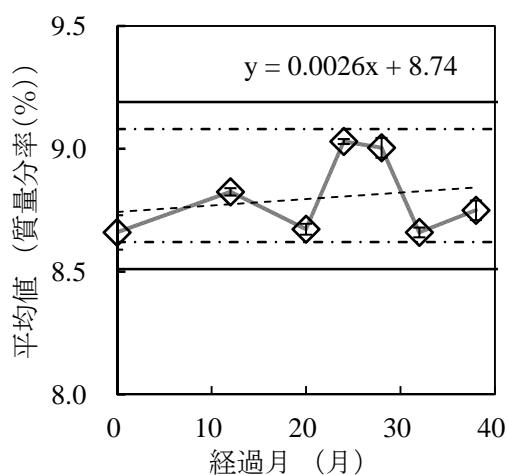
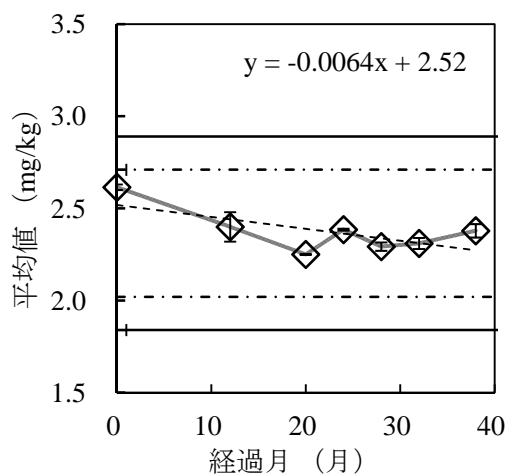
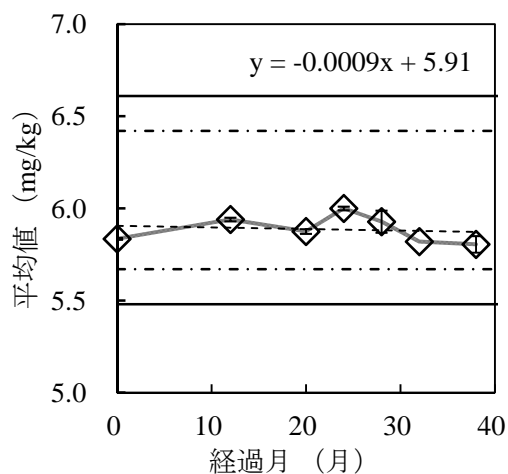



図 1B 標準物質 B のモニタリング試験成績

（脚注は図 1A 参照）

y = 0.0003x + 0.88

平均値 （mg/kg）

経過月 （月）

7. 標準物質B（水銀）

y = 0.0228x + 45.1

平均値 （mg/kg）

経過月 （月）

8. 標準物質B（ニッケル）

y = -0.0209x + 25.2

平均値 （mg/kg）

経過月 （月）

9. 標準物質B（鉛）

図 1B （続き）

1. 標準物質C（窒素全量）

2. 標準物質C（りん酸全量）

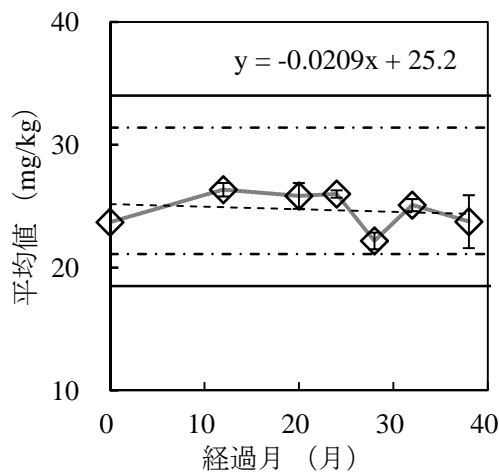
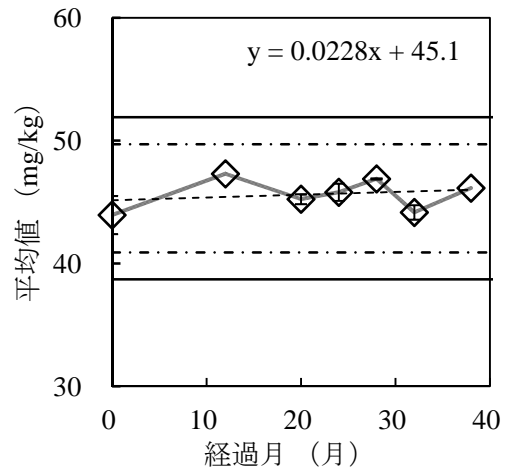
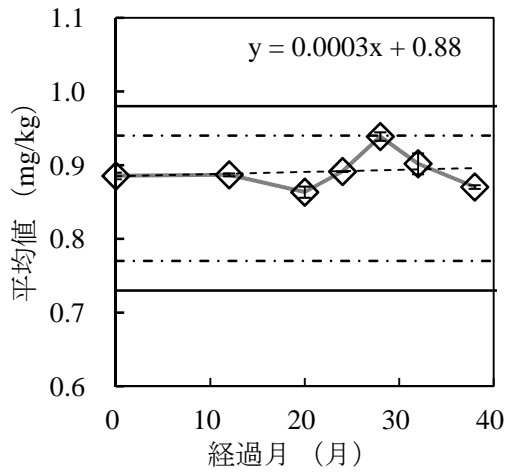
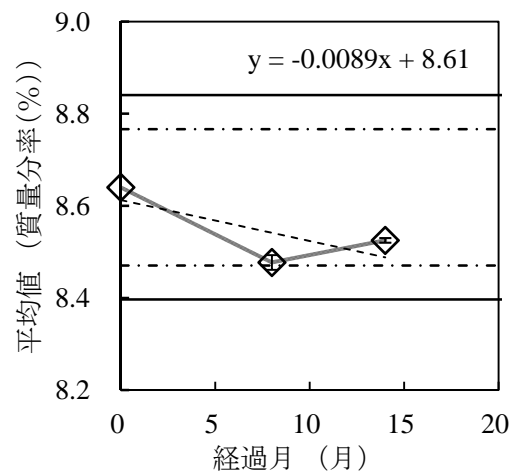
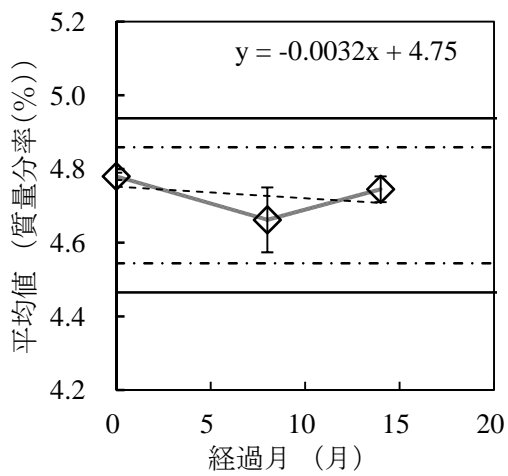
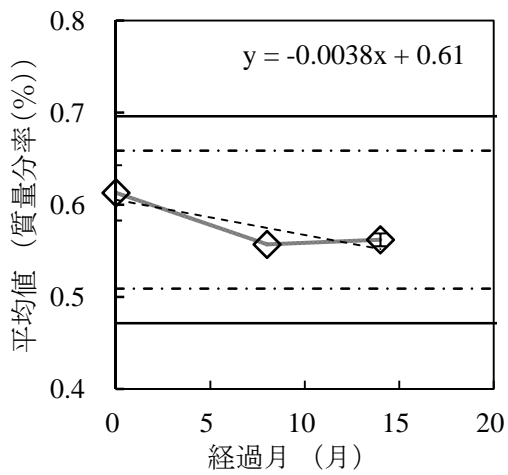
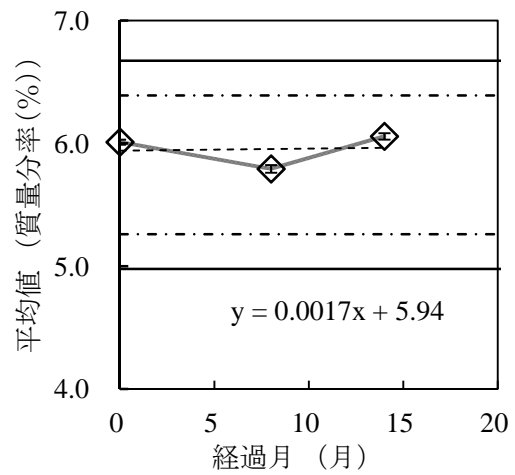
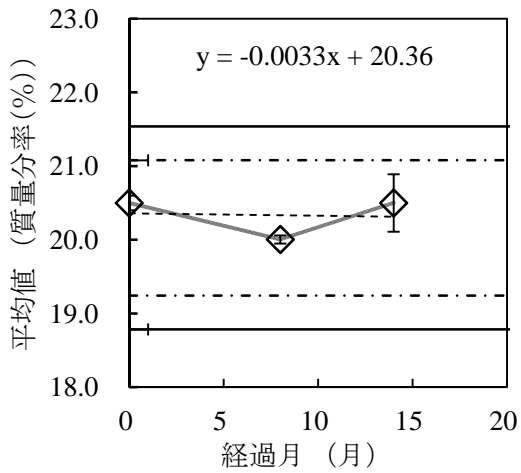
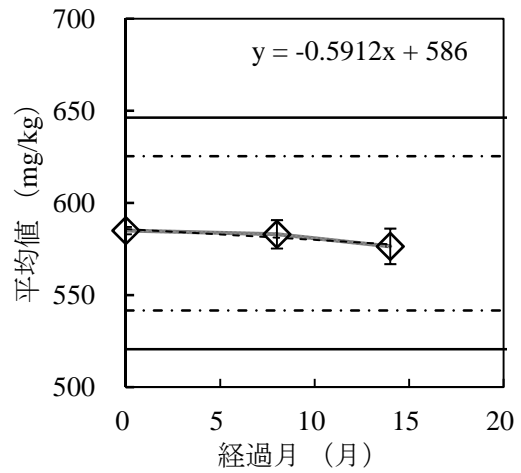
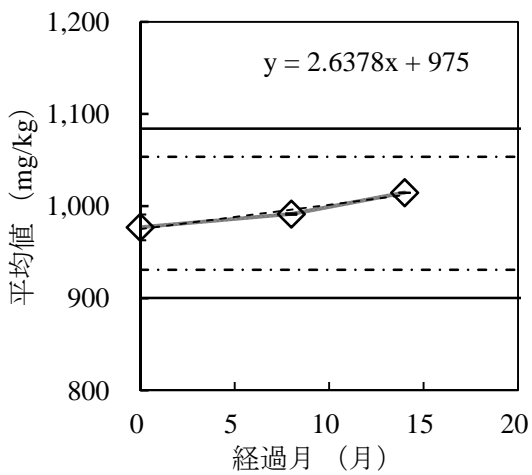



図 1C 標準物質 C のモニタリング試験成績

（脚注は図 1A 参照）

3. 標準物質C（加里全量）

4. 標準物質C（石灰全量）

5. 標準物質C（有機炭素）

6. 標準物質C（銅）

7. 標準物質C（亜鉛）

8. 標準物質C（ひ素）

図 1C （続き）

y = -0.0014x + 1.83
平均値 （mg/kg）
経過月 （月）
9. 標準物質C（カドミウム）
y = -0.0006x + 0.47
平均値 （mg/kg）
経過月 （月）
10. 標準物質C（水銀）
y = 0.325x + 73.2
平均値 （mg/kg）
経過月 （月）
11. 標準物質C（ニッケル）
y = -0.1666x + 80.5
平均値 （mg/kg）
経過月 （月）
12. 標準物質C（クロム）
y = -0.0065x + 36.1
平均値 （mg/kg）
経過月 （月）
13. 標準物質C（鉛）

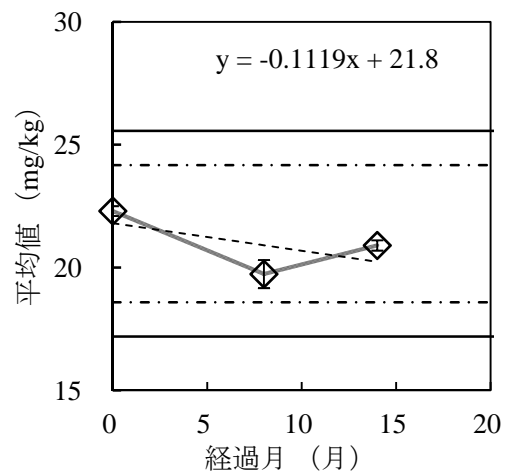
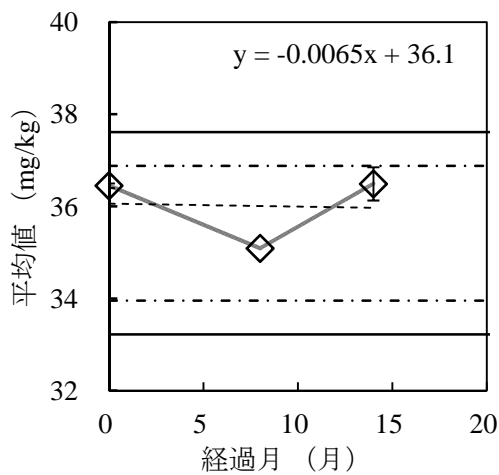
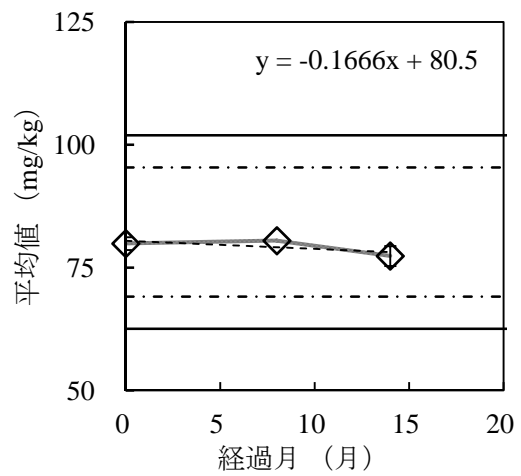
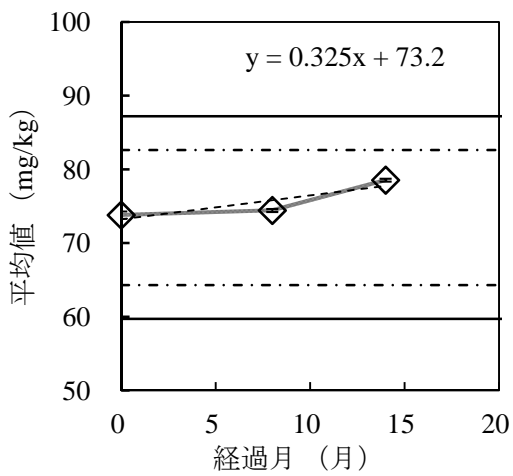
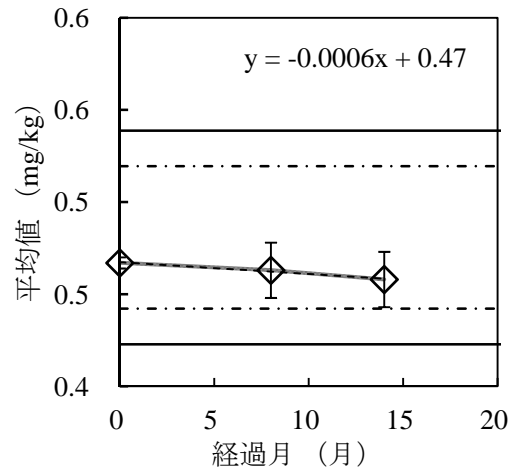
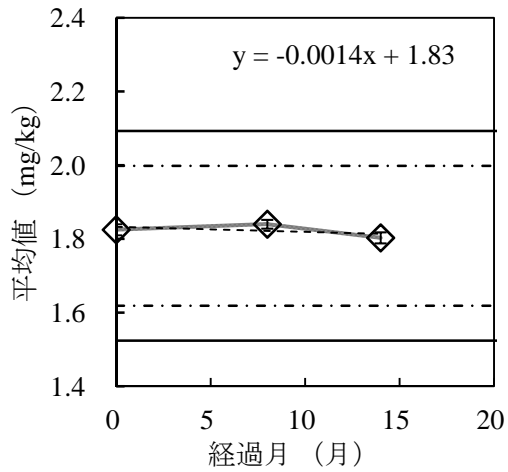



図 1C （続き）

2） 肥料認証標準物質の長期安定性評価

標準物質 A 及び標準物質 B の認証値設定時（0 ヶ月），12 ヶ月後，20 ヶ月後，24 ヶ月後，28 ヶ月後，32 ヶ月後及び 38 ヶ月後までの経過月並びに各回の測定の平均値並びに安定性試験の評価結果を表 4-1 及び表 4-2 に示した．安定性の評価は，経過月の平均値と各回の測定の平均値を用いて ISO Guide 35:2006（JIS Q 0035:2008）を参考に次の手順で行った．まず，（d）式及び（e）式より，経過月及び分析値との回帰直線の傾き（b_1）及び切片（b_0）を求めた．次に，（f）式及び（g）式より，予測の標準誤差（s）及び回帰直線の傾きの標準誤差（s_{b_1}）を求めた．回帰直線の傾きの標準誤差（s_{b_1}）と t 値（$t_{0.95,\mathrm{n}-2}$）を乗じた値と傾きの絶対値（$|b_1|$）を比較した．

その結果，標準物質 A 及び標準物質 B の全ての認証成分において，$|b_1| < s_{b_1} \times t_{0.95,\mathrm{n}-2}$ となり，傾きは有意とは認められなかった．これにより標準物質 A 及び標準物質 B の認証成分は，認証値設定時から 3 年 2 ヶ月間安定であったと評価した．また，試験回数は 3 回と少ないが，標準物質 C について同様の評価を実施したところ，いずれの成分も傾きは有意とは認められなかった．

$$b_1 = \sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y}) \Bigg/ \sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})^2 \qquad \cdots(\mathrm{d})$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1\bar{x} \qquad \cdots(\mathrm{e})$$

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-2}\sum_{i=1}^{n}(y_i - \hat{y}_i)^2} = \sqrt{\frac{1}{n-2}\sum_{i=1}^{n}(y_i - b_0 - b_1x_i)^2} \qquad \cdots(\mathrm{f})$$

$$s_{b_1} = s \Bigg/ \sqrt{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})^2} \qquad \cdots(\mathrm{g})$$

判定基準： $|b_1| < s_{b_1} \times t_{0.95,\mathrm{n}-2}$ ・・・有意でない（安定）

$|b_1| \geqq s_{b_1} \times t_{0.95,\mathrm{n}-2}$ ・・・有意である（不安定）

x_i： 調製後初回の試験実施日からモニタリング実施日までの経過時間（月）

$\bar{x}$： x_i の平均値（月）

y_i： モニタリング実施日の測定値の平均値

$\bar{y}$： y_i の試験成績の総平均値（n =試験実施回数（7））

b_1： 回帰直線の傾き

b_0： 回帰直線の切片

s： 予測の標準誤差（推定残差（$y_i - \hat{y}_i$）の標準偏差）

s_{b_1}： 回帰直線の傾きの標準誤差

$t_{0.95,n-2}$： t 値（両側有意水準 $\alpha = 0.05$，自由度 $n-2$）

表4-1 標準物質の安定性のモニタリング[1)]成績の評価結果

試験成分	$\bar{x}$ [2)]	$\bar{y}$ [3)]	回帰分析結果 b_1 [4)]	b_0 [5)]	s [6)]	s_{b_1} [7)]	判定基準[8)]	判定[9)]
	(mon.)	(%)[10)]	(%/mon.)[10)]	(%)[10)]	(%)[10)]	(%/mon.)[10)]	(%/mon.)[10)]	
(標準物質A)								
窒素全量（T-N）	22.0	14.70	-0.0079	14.88	0.11	0.004	0.009	○
アンモニア性窒素（A-N）	22.0	10.75	0.0012	10.72	0.10	0.004	0.010	○
く溶性りん酸（C-P_2O_5）	22.0	10.06	-0.0028	10.12	0.03	0.001	0.003	○
水溶性加里（W-K_2O）	22.0	13.58	0.0015	13.55	0.15	0.006	0.015	○
く溶性苦土（C-MgO）	22.0	3.36	0.0025	3.30	0.03	0.0010	0.0027	○
く溶性マンガン（C-MnO）	22.0	0.399	0.0000	0.399	0.011	0.0004	0.0010	○
く溶性ほう素（C-B_2O_3）	22.0	0.210	0.0002	0.206	0.004	0.0001	0.0004	○
(標準物質B)								
アンモニア性窒素（A-N）	22.0	8.29	-0.0020	8.34	0.09	0.004	0.010	○
可溶性りん酸（S-P_2O_5）	22.0	8.10	0.0022	8.05	0.05	0.002	0.005	○
水溶性りん酸（W-P_2O_5）	22.0	6.97	0.0012	6.94	0.03	0.001	0.003	○
水溶性加里（W-K_2O）	22.0	8.80	0.0026	8.74	0.17	0.007	0.017	○
(標準物質C)								
窒素全量（T-N）	7.3	4.73	-0.0032	4.75	0.08	0.008	0.102	○
りん酸全量（T-P_2O_5）	7.3	8.55	-0.0089	8.61	0.08	0.008	0.101	○
加里全量（T-K_2O）	7.3	0.58	-0.0038	0.61	0.02	0.002	0.028	○
石灰全量（T-CaO）	7.3	5.95	0.0017	5.94	0.20	0.02	0.25	○
有機炭素（O-C）	7.3	20.34	-0.0033	20.36	0.40	0.04	0.52	○

1) 標準物質A及び標準物質Bは調製後の試験実施日から起算して28ヶ月後までモニタリング
標準物質Cは調製後の試験実施日から起算して14ヶ月後までモニタリング
2) 調製後初回の試験実施日からモニタリング実施日までの経過時間の平均値（月）
3) 標準物質A及び標準物質Bの試験成績の総平均値（データ数 = 試験回数（7）× 併行試験数（2））
標準物質Cの試験成績の総平均値（データ数 = 試験実施月数（3）× 併行試験数（2））
4) 回帰直線の傾き
5) 回帰直線の切片
6) 予測の標準誤差
7) 回帰直線の傾きの標準誤差
8) $s_{b_1} \times t_{0.95,n-2}$
9) ○は次式に適合して傾きは有意とは認められず，安定と評価した成分
$|b_1| < s_{b_1} \times t_{0.95,n-2}$
10) 表中の%は質量分率

表4-2　標準物質の安定性のモニタリング[1)]成績の評価結果

試験成分	$\bar{x}$ [2)]	$\bar{y}$ [3)]	回帰分析結果 b_1 [4)]	b_0 [5)]	s [6)]	s_{b_1} [7)]	判定基準[8)]	判定[9)]
	(mon.)	(mg/kg)	(mg/kg / mon.)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg / mon.)	(mg/kg / mon.)	
（標準物質B）								
ひ素（As）	22.0	2.38	-0.0064	2.52	0.09	0.004	0.009	○
カドミウム（Cd）	22.0	5.89	-0.0009	5.91	0.08	0.003	0.008	○
水銀（Hg）	22.0	0.89	0.0003	0.88	0.03	0.001	0.003	○
ニッケル（Ni）	22.0	45.6	0.0228	45.1	1.4	0.05	0.13	○
鉛（Pb）	22.0	24.7	-0.0209	25.2	1.7	0.06	0.16	○
（標準物質C）								
銅全量（T-Cu）	7.3	581	-0.5912	586	2.3	0.2	3.0	○
亜鉛全量（T-Zn）	7.3	994	2.6378	975	5.8	0.6	7.4	○
ひ素（As）	7.3	21.0	-0.1119	21.8	1.4	0.1	1.8	○
カドミウム（Cd）	7.3	1.82	-0.0014	1.83	0.02	0.002	0.029	○
水銀（Hg）	7.3	0.46	-0.0006	0.47	0.0009	0.00009	0.00119	○
ニッケル（Ni）	7.3	75.6	0.3250	73.2	1.7	0.2	2.2	○
クロム（Cr）	7.3	79.3	-0.1666	80.5	1.7	0.2	2.1	○
鉛（Pb）	7.3	36.0	-0.0065	36.1	1.1	0.1	1.4	○

脚注は表4-1を参照

3） 肥料認証標準物質の有効期限

標準物質 A 及び標準物質 B の有効期限は，2012 年 11 月 30 日の肥料等技術検討会肥料認証標準物質調製部会の審議を受け，有効期限を 2 年延長し 2015 年 6 月末に変更した．その後，継続して長期安定性モニタリング試験を行った結果，標準物質 A 及び標準物質 B は認証値設定から 3 年 2 ヶ月間の安定性が確認された．今後，有効期限内に変質等が見られた場合には，FAMIC のホームページに掲載すること等で使用者に周知することとする．

4） ERM Application Note 1 よる測定値と認証値との比較（参考）

認証標準物質の測定値と認証値を比較する方法として，それらの差をそれらの不確かさを用いて評価する方法が ERM Application Note 1[10)]に紹介されている．この評価方法は新しい測定方法の妥当性確認のために紹介されているが，参考のため，今回の標準試料 A 及び標準試料 B の長期安定性試験成績への適用を試みることとした．

まず、長期安定性試験成績の総平均値（$\bar{y}_{\mathrm{meas}}$）及び認証値（μ）とそれらの差の絶対値（Δ_{m}）（（h）式）並びに（i）式より認証標準物質の標準不確かさ（u_{CRM}）及び（j）式より総平均値の標準不確かさ（u_{meas}）を表 5 に示した．得られた u_{meas} 及び u_{μ} を用いて（k）式より Δ_{m} の合成標準不確かさ（$u_{\mathrm{C}(\Delta_{\mathrm{m}})}$）を算出し，更に包含係数（$k=2$）を用いて（l）式より拡張不確かさ（$U_{\mathrm{C}(\Delta_{\mathrm{m}})}$）を算出して表 5 に示し，$\Delta_{\mathrm{m}}$ と $U_{\mathrm{C}(\Delta_{\mathrm{m}})}$ を比較した（式（m））．その結果，標準試料 A（7 成分）及び標準試料 B（9 成分）の 16 成分のうち 14 成分は，Δ_{m} が $U_{\mathrm{C}(\Delta_{\mathrm{m}})}$ を超えていないことから，測定値の総平均値（$\bar{y}_{\mathrm{meas}}$）及び認証値（μ）の間に有意差は認められなかった．有意差が認められた 2 成分のうち，く溶性苦土の Δ_{m}（質量分率 0.08 %）は，認証値（質量分率 3.28 %）に対して 2 %であり，拡張不確かさをわずか 0.01 %超えていた程度であった．また、カドミウムの Δ_{m}（0.15 mg/kg）は，認証値（6.04 mg/kg）に対して

2 %であり，拡張不確かさをわずか 0.03 mg/kg 超えていた程度であった．なお，式(j)による長期安定性試験成績の総平均値の不確かさ(u_{meas})の推定が実際の標準不確かさより過小評価していることも考えられた[10)]．

$$\mathit{\Delta}_{\mathrm{m}} = \left|\bar{y}_{\mathrm{meas}} - \mu\right| \quad \cdots\text{(h)}$$

$$u_{\mathrm{CRM}} = \frac{U_{95\,\%}}{2} \quad \cdots\text{(i)}$$

$$u_{\mathrm{meas}} = \sqrt{\frac{{s_{\mathrm{d}}}^2 + \frac{{s_{\mathrm{r}}}^2}{n}}{d}} \quad \cdots\text{(j)}$$

$$u_{\mathrm{C}(\Delta_{\mathrm{m}})} = \sqrt{{u_{\mathrm{meas}}}^2 + {u_{\mathrm{CRM}}}^2} \quad \cdots\text{(k)}$$

$$U_{\mathrm{C}(\Delta_{\mathrm{m}})} = 2u_{\mathrm{C}(\Delta_{\mathrm{m}})} \quad \cdots\text{(l)}$$

$$\mathit{\Delta}_{\mathrm{m}} \leqq U_{\mathrm{C}(\Delta_{\mathrm{m}})} \quad \cdots\text{(m)}$$

$\bar{y}_{\mathrm{meas}}$： 長期安定性試験成績の総平均値
μ： 認証値
$\mathit{\Delta}_{\mathrm{m}}$： 総平均値と認証値の差の絶対値
u_{CRM}： 認証値の標準不確かさ
$U_{95\,\%}$： 認証値の拡張不確かさ(包含係数 k = 2)
u_{meas}： 測定の標準不確かさ
s_{d}： 日間標準偏差
d： 試験回数(7)
s_{r}： 併行標準偏差
n： 繰返し数(2)
$u_{\mathrm{C}(\Delta_{\mathrm{m}})}$： $\mathit{\Delta}_{\mathrm{m}}$ の合成標準不確かさ
$U_{\mathrm{C}(\Delta_{\mathrm{m}})}$： $\mathit{\Delta}_{\mathrm{m}}$ の拡張不確かさ(包含係数 k = 2)

表5　長期安定性試験成績の総平均値と認証値の比較

試験成分	単位	$\bar{y}_{\mathrm{meas}}$ 1)	u_{meas} 2)	μ 3)	u_{CRM} 4)	Δ_{m} 5)	$U_{\mathrm{C}(\Delta_{\mathrm{m}})}$ 6)
（標準物質A）							
窒素全量（T-N）	(%)7)	14.70	0.05	14.71	0.04	0.01	0.13
アンモニア性窒素（A-N）	(%)7)	10.75	0.04	10.66	0.05	0.09	0.12
く溶性りん酸（C-P_2O_5）	(%)7)	10.06	0.03	10.05	0.04	0.01	0.09
水溶性加里（W-K_2O）	(%)7)	13.58	0.05	13.59	0.04	0.01	0.14
く溶性苦土（C-MgO）	(%)7)	3.36	0.02	3.28	0.02	0.08	0.07
く溶性マンガン（C-MnO）	(%)7)	0.399	0.004	0.403	0.003	0.004	0.009
く溶性ほう素（C-B_2O_3）	(%)7)	0.210	0.002	0.209	0.002	0.001	0.005
（標準物質B）							
アンモニア性窒素（A-N）	(%)7)	8.29	0.03	8.38	0.03	0.09	0.09
可溶性りん酸（S-P_2O_5）	(%)7)	8.10	0.02	8.10	0.01	0.00	0.05
水溶性りん酸（W-P_2O_5）	(%)7)	6.97	0.01	7.00	0.02	0.03	0.05
水溶性加里（W-K_2O）	(%)7)	8.80	0.06	8.85	0.04	0.05	0.14
ひ素（As）	(mg/kg)	2.38	0.04	2.36	0.05	0.02	0.13
カドミウム（Cd）	(mg/kg)	5.89	0.03	6.04	0.05	0.15	0.12
水銀（Hg）	(mg/kg)	0.89	0.01	0.86	0.01	0.03	0.03
ニッケル（Ni）	(mg/kg)	45.6	0.5	45.3	0.6	0.3	1.6
鉛（Pb）	(mg/kg)	24.7	0.6	26.2	0.7	1.5	1.9

1）内部品質管理試験成績の総平均値（データ数 = 試験回数（7）× 繰返し数（2））
2）総平均値の標準不確かさ
3）認証値
4）認証値の標準不確かさ
5）平均値と認証値の差の絶対値
6）平均値と認証値の差の合成拡張不確かさ（包含係数：k = 2）
7）質量分率

4. まとめ

FAMICは，肥料認証標準物質として標準物質A（高度化成肥料FAMIC-A-10），標準物質B（普通化成肥料FAMIC-B-10）及び標準物質 C（汚泥発酵肥料 FAMIC-C-12）の有効期限を確認するためにモニタリングによる長期安定性試験を実施した．この結果，標準物質A、標準物質B及び標準物質Cの各試験日毎の試験成績の平均値は、いずれの成分も内部品質管理の警戒線を超えることはなかった．また、試験成績を ISO Guide 35:2006（JIS Q 0035:2008）[6]を参考に統計解析し，安定性を評価したところ，標準物質 A 及び標準物質 B について認証値設定後 3 年 2 ヶ月間の全ての認証成分の安定性が確認された．

肥料認証標準物質の認証成分の長期安定性を確認することは，利用者の利便性向上に寄与するものと考えられる．一方，肥料の認証標準物質は，国内には他に調製している例はない．更に，国外で利用されている肥料認証標準物質は我が国の特有の肥料成分及びその試験方法が網羅されておらず，また，我が国向けの肥料認証標準物質も調製されていない．このような観点から，この標準物質の利用促進が，肥料分析の信頼性確保に貢献するところは大きいものと期待される．

文 献

1）独立行政法人農林水産消費安全技術センター（FAMIC）：肥料分析標準試料の配布申請手続き <http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub6.html>

2） ISO/IEC 17025 (2005): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories”（JIS Q 17025 :2006,「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」）

3） 高橋佐貴子, 廣井利明, 八木寿治, 井塚進次郎, 山西正将, 秋元里乃, 白井裕治, 柴田政人：2010 年度 肥料認標準物質の開発－高度化成肥料 FAMIC-A-10 及び普通化成肥料 FAMIC-B-10－, 肥料研究報告, **4**, 107~121, (2009)

4） 秋元里乃, 廣井利明, 八木寿治, 顯谷久典, 舟津正人, 矢野愛子, 坂東悦子, 藤田真理子, 白井裕治, 柴田政人：2012 年度 肥料認標準物質の開発－汚泥発酵肥料 FAMIC-C-12－, 肥料研究報告, **6**, 84~100 (2013)

5）ISO Guide 34 (2009): “General requirements for the competence of reference material producers”（JIS Q 0034: 2012,「標準物質生産者の能力に関する一般要求事項」）

6） ISO Guide 35 (2006): “Reference materials－General and statistical principles for certification”（JIS Q 0035 : 2008,「標準物質－認証のための一般的及び統計学的な原則」）

7） ISO Guide 31 (2000): “Reference materials－Contents of certificates and labels”（JIS Q 0031 : 2002,「標準物質－認証書及びラベルの内容」）

8） 独立行政法人農林水産消費安全技術センター（FAMIC）：肥料等試験法 <http://www.famic.go.jp/ffis/fert/ sub9.html>

9） ISO 5725-6 (1994): “Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results－Part 6: Use in practice of accuracy values”（JIS Z 8402-6: 1999,「測定方法及び測定結果の精確さ（真度及び精度）－第 6 部：精確さに関する値の実用的な使い方」）

10） Thomas Linsinger : “Comparison of a measurement result with the certified value”, European Reference Materials' application note 1, European Commission - Joint Research Centre Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM) (2010) <http://www.erm-crm.org/ERM_products/application_notes/application_note_1/Documents/erm_application_note_1_english_rev3.pdf>

Long-term Stability Evaluation of Fertilizer Certified Reference Materials for Determination of Major Components and Harmful Elements: High-Analysis Compound Fertilizer (FAMIC-A-10) and Ordinary Compound Fertilizer (FAMIC-B-10) and Composted Sludge Fertilizer (FAMIC-C-12)

Shigeyuki INABA[1], Yasuharu KIMURA[1], Taku FUJITA[1], Keisuke AOYAMA[1],
Kouhei ITOU[1], Masanori HASEGAWA[1] and Yuji SHIRAI[2]

[1] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center
[2] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC) has performed long-term stability examinations to confirm shelf life of fertilizer certified reference materials (CRMs), high-analysis compound fertilizer (FAMIC-A-10) , ordinary compound fertilizer (FAMIC-B-10) and composted sludge fertilizer (FAMIC-C-12) for analysis of major components and harmful elements. FAMIC-A-10 is certified for the contents of total nitrogen (T-N), ammonium nitrogen (A-N), citric acid-soluble phosphorus (C-P_2O_5), water-soluble potassium (W-K_2O), citric acid-soluble magnesium (C-MgO), citric acid-soluble manganese (C-MnO) and citric acid-soluble boron (C-B_2O_3). FAMIC-B-10 is certified for the concentrations of ammonium nitrogen (A-N), neutral citrate-soluble phosphorus (S-P_2O_5), water-soluble phosphorus (W-P_2O_5), water-soluble potassium (W-K_2O), arsenic (As), cadmium (Cd), lead (Pb), nickel (Ni) and mercury (Hg). FAMIC-C-12 is certified for the concentrations of total nitrogen (T-N), total phosphoric acid (T-P_2O_5), total potassium (T-K_2O), total calcium (T-CaO), total copper (T-Cu), total zinc (T-Zn), organic carbon (O-C), arsenic (As), cadmium (Cd), mercury (Hg), nickel (Ni), chromium（Cr）, and lead (Pb).The monitoring long-term stability was evaluated by a statistical analysis of the results of monitoring stability examination on the chemical analysis of the stock CRMs. The data was performed a statistical analysis in reference to ISO Guide 35: 2006. It show evidence that there were no need to update the certified value and its uncertainty. From these results of the statistical analysis, the all certified values of the CRMs of high-analysis compound fertilizer (FAMIC-A-10) and ordinary compound fertilizer (FAMIC-B-10) were stable for three years and two months after preparation. In addition, composted sludge fertilizer (FAMIC-C-12) had little examination number of times, but was the same. It is compared the certification level with the measurements of CRMs by an introduced evaluation method in ERM Application Note 1 by reference. The CRMs were expected to be useful for the quality assurance and the quality control in the analysis of major components and harmful elements in compound fertilizers.

Key words certified reference material (CRM), compound fertilizer, composted sludge fertilizer, major component, harmful elements, ISO Guide 31, ISO Guide 35, long-term stability, monitoring examination

(Research Report of Fertilizer, **7**, 105~122, 2014)

10 可溶性けい酸試験法の性能調査

－ふっ化カリウム法－

宮下 靖司[1]

キーワード クライテリア･アプローチ，可溶性けい酸，ふっ化カリウム法，肥料等試験法

1. はじめに

国際的な適合性評価の動きが進む中，我が国においても ISO/IEC 17025:2005（JIS Q 17025:2005）[1)]の要求事項を参考にした試験成績の信頼性確保の考え方が重要視されている．ISO/IEC 17025 では，国際･国家規格等又は妥当性が確認された方法を選定することを要求している．一方，品質の評価に用いる分析法を規格，公定法等で指定するのではなく，一定の規準（criteria）を満たす分析法ならば，適用可能としている．この考え方はクライテリア･アプローチ（Criteria Approach）と呼ばれており，化学物質を客観的に測定する分析法の評価に適用できることがコーデックス委員会において合意されている．食品を対象としているコーデックス分析法の性能規準に関する数値設定のためのガイドライン[2)]には適用範囲，真度，精度，定量下限等が設定されている．

しかしながら，肥料の試験法に要求される性能規準は，食品とは異なるため，新たに設定する必要があり，近年，新たに開発された方法についてはこれらの性能を調査して肥料等試験法[3)]に順次収載している．ただし，肥料分析法（1992 年版）[4)]の記載様式を書き替えた試験法には定量下限等が記載されていないため，それらの性能を調査する必要がある．このことから，筆者は肥料等試験法に収載されている試験法のうち，主要な成分として規定されているけい酸（SiO_2）[5, 6)]のうち可溶性けい酸（S-SiO_2）のふっ化カリウム法の精確さ等の性能を調査したので報告する．

2. 材料及び方法

1） 試料の調製

流通している肥料原料の中には可溶性けい酸（S-SiO_2）が含まれているおそれがあることから，試料の調製にあたってはできる限り各肥料原料の主成分に対応する JIS 規格に規定された試薬を用いた（表 1）．なお，可溶性けい酸（S-SiO_2）を含有する試薬として，二酸化けい素(JIS K8885)及びけい酸カルシウム（鹿１級）を用いた試験も検討したが，これら試薬は可溶性けい酸（S-SiO_2）として質量分率 1 %以下の測定結果であり，本試験には使用できなかった．また，可溶性けい酸（S-SiO_2）を含有する認証標準物質の入手も困難であった．そこで，鉱さいけい酸質肥料の原料として利用されている鉱さいを振動ミル型粉砕機を用いて粉砕し，212 µm の網ふるいを全通した鉱さいを混合ののち，鉱さい中の可溶性けい酸（S-SiO_2）の含有量を測定し，流通している肥料の配合割合を参考に表 2 のとおり試薬と混合し，可溶性けい酸（S-SiO_2）として質量分率 2 %～40 %含有する試料を調製した．

[1] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター名古屋センター
（現）農林水産省東海農政局消費･安全部

2）装置及び器具

（1） 恒温回転振り混ぜ機： 三喜製作所 RS-12

（2） ホットプレート： 柴田科学 NP-6

（3） アスピレーター： AS ONE AS-01

（4） 電動ビュレット： 京都電子工業 APB-620

表1 試料の調製に使用する試薬等

使用する試薬等		対応する原材料名	
名称	規格	名称又は種類名（材料）	慣用名
りん酸二水素カルシウム一水和物	米山一級	重過りん酸石灰	重過石
炭酸カルシウム	JIS K8617 特級	炭酸カルシウム肥料	炭カル
鉱さい		鉱さいけい酸質肥料	珪カル
硫酸マグネシウム七水和物	JIS K8995 特級	硫酸苦土肥料	硫マグ

表2 試験に用いた試料の配合割合 （質量分率 %）

使用する試薬等	真度評価用試料			定量下限確認用試料
	S-SiO_2-40	S-SiO_2-25	S-SiO_2-10	S-SiO_2-2
りん酸二水素カルシウム一水和物		7	8	8
炭酸カルシウム	11.4	30	34.84	52.57
鉱さい	88.6	55.38	22.16	4.43
硫酸マグネシウム七水和物		7.62	35	35
S-SiO_2含有量	40	25	10	2

3）試薬の調製

（1） 水： 水精製装置（Merck Millipore Elix Advantage5）を用いて精製した JIS K 0557 に規定する A3 相当の水を使用した．

（2） 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液： 水約 30 mL をポリエチレン瓶にとり，冷却しながら JIS K 8576 に規定する水酸化ナトリウム約 35 g を少量ずつ加えて溶かし，密栓して 4～5 日間放置した．その上澄み液 5.5 mL～11 mL を共栓保存容器にとり，炭酸を含まない水 1,000 mL を加えた．

（3） 塩酸： JIS K 8180 に規定する特級又は同等の品質の試薬．

（4） 塩化カリウム： JIS K 8121 に規定する特級又は同等の品質の試薬．

（5） 塩化カリウム溶液： JIS K 8101 に規定するエタノール 250 mL を水 750 mL に加えて混合し，塩化カリウム 150 g を加えて溶かした．指示薬としてメチルレッド溶液（0.1 g/100 mL）数滴を加え，溶液の色が赤色になるまで塩酸を滴下して酸性とし，1 日間放置後 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で中和した．

（6） ふっ化カリウム溶液： JIS K 8815 に規定するふっ化カリウム 58 g を水 1,000 mL に溶かした．

（7） メチルレッド溶液（0.1 g/100 mL）： JIS K 8896 に規定するメチルレッド 0.10 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95)100 mL に溶かした．

（8） フェノールフタレン溶液（1 g/100 mL）： JIS K 8799 に規定するフェノールフタレン 1 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95)100 mL に溶かした．

（9） その他の試薬： 肥料等試験法[3)]に従った．

4） 試験成分及び試験方法

可溶性けい酸（S-SiO_2）の抽出は表 3 のとおり肥料等試験法[3)]の試験方法を用いた．なお，参考のため，試験法のフローシート（図 1）を示した．

表3　試験成分及び試験方法

試験成分	肥料等試験法の項目	試料溶液の抽出方法
可溶性けい酸（S-SiO_2）	4.4.1.a　ふっ化カリウム法	（4.1）塩酸(1+23)回転振とう（30℃）

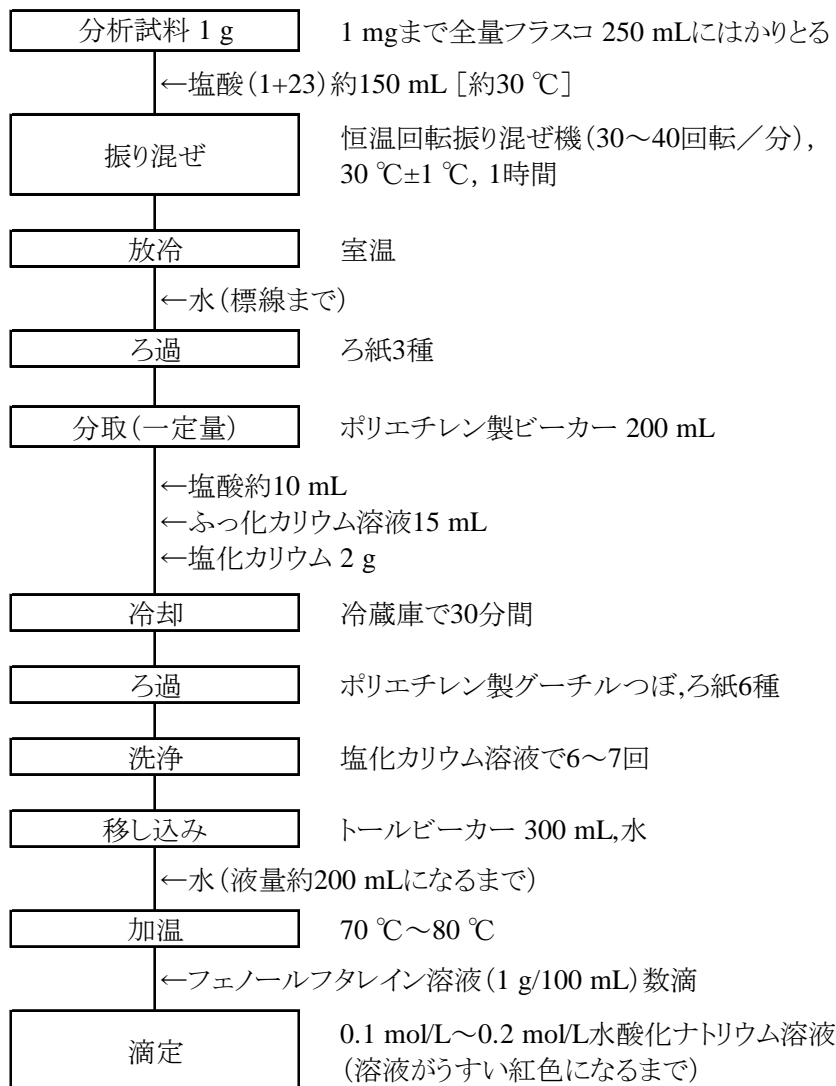



図 1　肥料中の可溶性けい酸試験法フローシート

3.　結果及び考察

1） 試料の調製に用いた鉱さい中のけい酸の含有量

試料の調製に用いるため，鉱さい中の可溶性けい酸（S-SiO_2）の含有量を肥料等試験法[3)]により，日を変えて 3 点併行で 2 回測定した結果を表 4 に示した．平均値より算出した相対標準偏差は 0.5 %と小さかった．このこと

から試料の調製には平均値を用いて配合設計を行った.

表4　試料の調製に用いた鉱さいの測定値

試料	平均値[1] (%)[2]	標準偏差 (%)[2]	相対 標準偏差 (%)
鉱さい	45.15	0.24	0.5

1）可溶性けい酸（S-SiO_2）6点の平均値

2）質量分率

2） 真度評価結果

真度評価用試料を用いて 3 点併行で可溶性けい酸（S-SiO_2）の試験を実施した成績を表 5 に示した.

肥料取締法[7]において，保証成分量（含有する主成分の最小量）を生産業者保証票又は輸入業者保証票（以下，「保証票」という）に記載することを普通肥料（汚泥肥料等を除く）の生産又は輸入した業者（以下，「生産業者等」という）に義務づけている．よって，可溶性けい酸（S-SiO_2）の設計値と測定値の差について算出した．可溶性けい酸（S-SiO_2）として質量分率 10 %～40 %含有する試料について測定したところ，設計値と測定値との差は質量分率−0.66 %～0.13 %であり，設計値に対する回収率は，98.4 %～101.0 %であった.

このことから，この試験法は，普通肥料の可溶性けい酸（S-SiO_2）の保証成分量の評価を得るのに十分な正確さを有していることが確認された.

なお，AOAC[8]における濃度レベルにおける回収率の許容範囲は濃度 10 %～100 %未満で 95 %～102 %であり，参考のため比較したところ可溶性けい酸（S-SiO_2）のいずれの試料の回収率もこれらの許容範囲内であった.

表5　試料中の可溶性けい酸（S-SiO_2）の試験成績

試料	設計値 A[1]（%）[2]	測定値 B[3]（%）[2]	設計値との差 C[4]（%）[2]	差の割合 D[5]（%）	回収率 E[6]（%）	標準偏差 F[7]（%）[2]	相対標準偏差 G[8]（%）
S-SiO_2-40	40	39.34	-0.66	-1.6	98.4	0.1	0.3
S-SiO_2-25	25	25.13	0.13	0.5	100.5	0.2	0.9
S-SiO_2-10	10	10.10	0.10	1.0	101.0	0.04	0.4

1）試料中の可溶性けい酸（S-SiO_2）の含有量（設計値）

2）質量分率

3）3点併行試験の平均値

4）C＝B－A

5）D＝（C／A）×100

6）E＝（B／A）×100

7）3点併行試験の標準偏差

8）G＝（F／B）×100

3) 検出下限及び定量下限

定量下限確認用試料を用いて 7 点併行で可溶性けい酸（S-SiO_2）の試験を実施した結果を表 6 に示した．なお，定量下限は「（標準偏差）×10」式，また，検出下限は「（標準偏差）×2×t（n-1,0.05）」式を用いて算出した[9]．

可溶性けい酸（S-SiO_2）の含有量として質量分率 2 %含有する試料を調製し，定量下限及び検出下限を確認したところ，質量分率 0.3 %及び 0.1 %程度と推定された．

普通肥料の公定規格[10]において普通肥料の可溶性けい酸（S-SiO_2）の含有すべき主成分の最小量並びに肥料取締法施行規則[11]において指定配合肥料の可溶性けい酸（S-SiO_2）の保証できる最小量は 10 %と規定されている．このことから，この試験法は公定規格における普通肥料，指定配合肥料の含有量の評価を得るのに十分な定量範囲を有していることが確認された．

表6 定量下限確認試験の成績 （質量分率 %）

試料	設計値[1)]	平均値[2)]	標準偏差	推定定量下限値[3)]	推定検出下限値[4)]
S-SiO_2-2	2	1.98	0.03	0.3	0.1

1） 試料中の可溶性けい酸（S-SiO_2）の含有量（設計値）
2） 7点併行試験の平均値
3） 標準偏差×10
4） 標準偏差×2×t（n-1,0.05）

4) 室間再現精度

クライテリア・アプローチにおける性能規準では室間再現精度が要求されるが，試験法の妥当性確認のための共同試験の実施には大きな労力がかかる．このことから，既報の外部精度管理試験[12]のうち該当する試験法で実施された成績[13)~19)]を適用することとし，それらの成績を表 7 に示した．なお，外部精度管理試験では，ロバスト法を用いて報告値の中央値及びロバスト標準偏差（NIQR）が算出されている．中央値及び NIQR は正規分布において平均値及び標準偏差に一致する．

可溶性けい酸（S-SiO_2）の中央値が質量分率 28.25 %～36.15 %で，その NIQR は質量分率 0.48 %～0.87 %，その室間再現相対標準偏差は 1.3 %～3.1 %であった．また，可溶性けい酸（S-SiO_2）の試験成績の HorRat 値は 0.80～1.63 であった．

なお，AOAC[8]における濃度レベル質量分率 100 %及び 10 %における室間再現精度の目安は 2 %及び 3 %であり，参考のため比較したところ可溶性けい酸（S-SiO_2）の室間再現相対標準偏差はこれらの目安と同等であった．

表7　外部精度管理試験成績

試験成分	試料の種類	試験年度	試験室数	中央値 A[1)] (%)[2)]	NIQR B[3)] (%)[2)]	RSDrob C[4)] (%)	PRSD D[5)] (%)	HorRat値 E[6)]
S-SiO_2	鉱さいけい酸質肥料	2006	66	33.92	0.60	1.8	1.7	1.03
		2007	67	28.25	0.87	3.1	1.9	1.63
		2008	68	33.35	0.49	1.5	1.7	0.85
		2009	69	32.67	0.62	1.9	1.7	1.09
		2010	67	33.52	0.57	1.7	1.7	0.98
		2011	59	30.69	0.75	2.4	1.8	1.35
		2012	67	36.15	0.48	1.3	1.7	0.80

1） 中央値
2） 質量分率
3） ロバスト標準偏差（NIQR）
4） 室間再現相対標準偏差 C＝（B/A）×100
5） Horwitz修正式から算出された室間再現標準偏差
6） HorRat値 E＝C/D

4．まとめ

可溶性けい酸（S-SiO_2）のふっ化カリウム法の真度，定量・検出下限及び室間再現精度を調査したところ，次の結果を得た．

（1） 可溶性けい酸（S-SiO_2）として質量分率 10 %～40 %含有する試料を調製し測定したところ，設計値と測定値との差は質量分率−0.66 %～0.13 %であり，設計値に対する回収率は，98.4. %～101.0 %であった．

（2） 可溶性けい酸（S-SiO_2）として質量分率 2 %含有する試料を調製し，定量下限及び検出下限を確認したところ，質量分率 0.3 %及び 0.1 %程度と推定された．

（3） 外部精度管理試験より室間再現精度を調査したところ，可溶性けい酸（S-SiO_2）は，中央値が質量分率 28.25 %～36.15 %の範囲でそのロバスト標準偏差（NIQR）は質量分率 0.48 %～0.87 %，その室間再現相対標準偏差は 1.3 %～3.1 %であった．

（1）～（3）の成績は，肥料等試験法[3)]に収載されたふっ化カリウム法が主要な成分としての可溶性けい酸（S-SiO_2）の含有量を評価することができる性能を有していることを示しており，クライテリア・アプローチのガイドラインの可溶性けい酸（S-SiO_2）試験法の性能規準を作成する際に，これらの試験成績は十分に参考になると考えられた．

文　献

1） ISO/IEC 17025 (2005): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories” （JIS Q 17025 :2006，「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」）

2） Codex Alimentarius Commission: “PROCEDURAL MANUAL, Twentieth edition, (2011)
<ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/ProcManuals/Manual_20e.pdf>

3） 農林水産消費安全技術センター（FAMIC）：肥料等試験法
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html>

4） 農林水産省農業環境技術研究所：肥料分析法（1992 年版），日本肥糧検定協会，東京(1992)

5） 肥料取締法施行令, 昭和 25 年 6 月 20 日, 政令第 198 号, 最終改平成 18 年 3 月 23 日, 政令第 51 号（2006）

6） 農林水産省告示：肥料取締法施行令第一条の二の規定に基づき農林水産大臣の指定する有効石灰等を指定する件, 昭和 59 年 3 月 16 日, 農林水産省告示第 695 号, 最終改正平成 11 年 5 月 13 日, 農林水産省告示第 704 号 (1999)

7） 肥料取締法：昭和 25 年 5 月 1 日, 法律第 127 号, 最終改平成 23 年 8 月 30 日, 法律第 105 号（2011）

8） AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals, AOAC INTERNATIONAL (2002)

9）Codex: “Guideline on Analytical Terminology”, CAC/GL 72-2009 (2009)

10） 農林水産省告示：肥料取締法に基づき普通肥料の公定規格を定める等の件, 昭和 61 年 2 月 22 日, 農林水産省告示第 284 号, 最終改正平成 26 年 9 月 1 日, 農林水産省告示第 1146 号 (2014)

11） 農林水産省令：肥料取締法施行規則, 昭和 25 年 6 月 20 日, 農林省令第 64 号, 最終改正平成 26 年 9 月 1 日, 農林水産省令第 47 号 (2014)

12）ISO 13528 (2005): “Statical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons”（JIS Z 8405: 2008, 「試験所間比較による技能試験のための統計的方法」）

13） 杉村 靖, 加藤公栄, 齊木雅一, 阿部文浩, 伊藤 潤, 内山 丈, 白井裕治, 引地典雄, 杉原 進：2006 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **1**, 138～151 (2008)

14） 高橋雄一, 加藤公栄, 井塚進次郎, 清水 昭, 松﨑 学, 井上智江, 内山 丈, 白井裕治, 杉原 進：2007 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **1**, 152～169 (2008)

15） 高橋雄一, 白澤優子, 井塚進次郎, 清水 昭, 井上智江, 内山 丈, 白井裕治, 上沢正志：2008 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **2**, 97～115 (2009)

16） 八木寿治, 白澤優子, 相澤真理子, 清水 昭, 井上智江, 八木啓二, 白井裕治, 上沢正志：2009 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **3**, 73～94 (2010)

17） 八木寿治, 白澤優子, 相澤真理子, 清水 昭, 福中理絵, 八木啓二, 白井裕治, 上沢正志：2010 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **4**, 85～106 (2011)

18） 惠智正宏, 渡辺絵里菜, 小西範英, 阿部 進, 福中理絵, 八木啓二, 白井裕治, 上沢正志：2011 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **5**, 68～89 (2012)

19） 舟津正人, 渡辺絵里菜, 阿部 進, 白井小枝, 稲葉茂幸, 八木啓二, 白井裕治, 上沢正志：2012 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **6**, 61～83 (2013)

Verification of Performance Characteristics of Testing Method for Soluble Silicic Acid in Fertilizer by Potassium Fluoride Method

Yasushi MIYASHITA[1]

[1]Food and Agricultural Materials Inspection Center, Nagoya Regional Center
(Now) Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Tokai Regional Agricultural Administration Office, Food Safety and Consumer Division

We verified performance characteristic of testing method for hydrochloric acid-soluble silicic acid ($S\text{-}SiO_2$) by potassium fluoride method described in Testing Method for Fertilizers. The accuracy of testing method for $S\text{-}SiO_2$ was assured from 3 replicate determinations of 3 fertilizer samples containing 10 % ~ 40 % $S\text{-}SiO_2$ which were prepared each test. As a result, the mean recoveries ranged from 98.4 % ~ 101.0 %. On the basis of 7 replicate measurements of testing method, the limit of quantitative value (LOQ) was estimated at 0.3 %. Reported in Research Report of Fertilizer, median, normalized interquartile ranges (NIQR) and relative standard deviations (RSD_R) for reproducibility of $S\text{-}SiO_2$, obtained by proficiency testings were 28.25 % ~ 36.15 %, 0.48 % ~ 0.87 %, and 1.3 % ~ 3.1 %, respectively. These results indicated that this method performance characteristic was available in establishing criteria for a determination method of $S\text{-}SiO_2$.

Key words criteria approach, silicic acid, potassium fluoride method, Testing Methods for Fertilizers

(Research Report of Fertilizer, **7**, 123~130, 2014)

11　鉄試験法の性能調査

－フレーム原子吸光法－

髙橋伸英[1], 鈴木知華[2], 佐々木徳幸[2]

キーワード　クライテリア・アプローチ, 鉄, フレーム原子吸光法, 肥料等試験法

1. はじめに

国際的な適合性評価の動きが進む中, 我が国においても ISO/IEC 17025:2005（JIS Q 17025:2005）[1)]の要求事項を参考にした試験成績の信頼性確保の考え方が重要視されている. ISO/IEC 17025 では, 国際・国家規格等又は妥当性が確認された方法を選定することを要求している. 一方, 品質の評価に用いる分析法を規格, 公定法等で指定するのではなく, 一定の規準（criteria）を満たす分析法ならば, 適用可能としている. この考え方はクライテリア・アプローチ（Criteria Approach）と呼ばれており, 化学物質を客観的に測定する分析法の評価に適用できることがコーデックス委員会において合意されている. 食品を対象としているコーデックス分析法の性能規準に関する数値設定のためのガイドライン[2)]には適用範囲, 真度, 精度, 定量下限等が設定されている.

しかしながら, 肥料の試験法に要求される性能規準は, 食品とは異なるため, 新たに設定する必要がある. 近年, 新たに開発された方法についてはこれらの性能を調査して肥料等試験法[3)]に順次収載している. ただし, 肥料分析法（1992 年版）[4)]の記載様式を書き替えた試験法には定量下限等が記載されていないため, それらの性能を調査する必要がある. このことから, 筆者らは肥料等試験法に収載されている試験法のうち, 効果発現促進材として使用量を表示する[5)]水溶性鉄（W-Fe）のフレーム原子吸光法の精確さ等の性能を調査したので報告する.

2. 材料及び方法

1） 試料の調製

流通している肥料原料の中には鉄が含まれているおそれがあることから, 試料の調製には表 1 のとおり, できる限り各肥料原料の主成分に対応する JIS 規格に規定されている試薬特級等を用いた. 流通している肥料の配合割合を参考にして, 表 2 のとおり試薬を混合し, 鉄(Fe)として質量分率 0.01 %～10 %含有する試料を調製した. さらに, 試薬を水に溶解して鉄(Fe)として質量分率 0.001 %～1 %含有する試料を調製した.

2） 装置及び器具

（1） 原子吸光分析装置： 日立ハイテクノロジーズ Z-2310
（2） 上下転倒式恒温回転振り混ぜ機： ADVANTEC 東洋　恒温回転振とう機　THM062FA

[1] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター（現）肥飼料安全検査部
[2] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター

表1 試料の調製に使用する試薬

使用する試薬		対応する原材料名	
名称	規格	名称又は種類名（材料）	慣用名
硫酸アンモニウム	JIS K8960 特級	硫酸アンモニア	硫安
りん酸水素二アンモニウム	JIS K9016 特級	りん酸アンモニア	DAP
塩化カリウム	JIS K8121 特級	塩化加里	塩加
炭酸カルシウム	JIS K8617 特級		
EDTA鉄(Ⅲ)	試験研究用	効果発現促進材	

表2 試験に用いた試料の配合割合 （質量分率 %）

使用する試薬	真度評価用試料						定量下限確認用試料	
	Fe-10[1)]	Fe-0.5[1)]	Fe-0.05[1)]	Fe-1[2)]	Fe-0.1[2)]	Fe-0.01[2)]	Fe-0.01[1)]	Fe-0.001[2)]
硫酸アンモニウム	11.400	11.400	11.400	11.400	11.400	11.400	11.400	11.400
りん酸水素二アンモニウム	7.450	7.450	7.450	7.450	7.450	7.450	7.450	7.450
塩化カリウム	5.000	6.330	6.330	6.330	6.330	6.330	6.330	6.330
炭酸カルシウム	0.745	71.050	74.443				74.745	
EDTA鉄(Ⅲ)	75.401	3.770	0.3770	7.540	0.754	0.075	0.075	0.0075
水				67.280	74.066	74.745		74.813
Fe含有量	10	0.5	0.05	1	0.1	0.01	0.01	0.001

1） 粉状肥料
2） 液状肥料

3） 試薬の調製

（1） 水： 水精製装置（MERCK ELIX ESSENTIAL5）を用いて精製したJIS K 0557に規定するA3相当の水を使用した.

（2） 塩酸： JIS K 8180 に規定する特級試薬を使用した.

（3） 鉄標準液（Fe 0.1 mg/mL）： 鉄標準液（Fe 100 mg/L）（和光純薬工業;JCSS）を使用した.

（4） 検量線用鉄標準液： 鉄標準液（Fe 0.1 mg/mL）を段階的にとり，最終希釈液に調製する容量の 1/4 容量の塩酸(1+5)をそれぞれ加え，水で希釈して検量線用鉄標準液（Fe 0.05 μg/mL～6.0 μg/mL）を多段階調製した.

（5） 検量線用空試験液： 塩酸（1+5）を一定量とり，水で 4 倍に希釈した.

4） 試験成分及び試験方法

水溶性鉄（W-Fe）の抽出及び測定は表 3 のとおり肥料等試験法[3)]の試験方法を用いた．なお，参考のため，試験法のフローシートを図 1 に示した.

表3 試験成分及び試験方法

試験成分	肥料等試験法の項目	試料溶液の調製方法
水溶性鉄（W-Fe）	4.13.1.a フレーム原子吸光法	（4.1） 水回転振とう

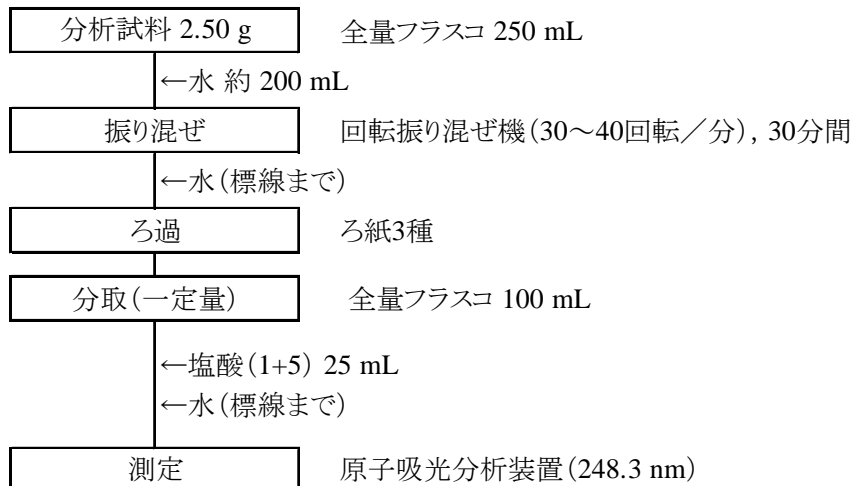



図1 水溶性鉄試験法フローシート

3. 結果及び考察

1） 試料の調製に用いた EDTA 鉄(Ⅲ)中の鉄の含有量

試料の調製に用いる EDTA 鉄（Ⅲ）中の鉄含有量を肥料等試験法（水溶性鉄）により 3 点併行で測定した結果を表 4 に示した．平均値より算出した純度は質量分率 100.5 % と試薬の表示値（min. 98.0 %）を満たしており，その相対標準偏差は 0.49 % と小さかった．このことから，試料の調製では理論値を用いて配合設計を行った．

表4 試料の調製に用いたEDTA鉄（Ⅲ）中の鉄の測定値

試料	理論値[1] （%）[4]	平均値[2] （%）[4]	標準偏差 （%）[4]	理論値に対する割合[3] （%）	相対標準偏差 （%）
EDTA鉄（Ⅲ）	13.26	13.33	0.07	100.5	0.49

1） EDTA鉄（Ⅲ）の鉄（Fe）理論値
2） 3点併行試験の平均値
3） （平均値／理論値）×100
4） 質量分率

2） 真度評価試験

真度評価用試料を用いて 3 点併行で水溶性鉄（W-Fe）の試験を実施した成績を表 5 に示した．

農林水産省告示[5]において，効果発現促進材の使用量等は家庭園芸用肥料以外の普通肥料にあっては，保証票に表示することが義務づけられている．鉄（Fe）については，効果発現促進材として液状肥料での使用も多いため，粉状試料と液状試料について調査を行い，水溶性鉄（W-Fe）の回収率及び理論値と測定値との差の割合について算出した．粉状試料である Fe-10，Fe-0.5 及び Fe-0.05 の回収率は 101.1 %～ 107.0 %であり，Fe-10，Fe-0.5 及び Fe-0.05 の理論値と測定値との差の割合は，1.1 %～7.0 %であった． 液状試料である Fe-1，Fe-0.1 及び Fe-0.01 の回収率は 103.6 %～105.7 %であり，Fe-1，Fe-0.1 及び Fe-0.01 の理論値と測定値との差の割合は，3.6 %～5.7 %であった．このことから，この試験法は，普通肥料（家庭園芸用肥料以外）の水溶性鉄

（W-Fe）の表示値の評価を得るに十分な正確さを有していることが確認された.

なお，AOAC[6)]における濃度レベルにおける回収率の許容範囲は質量分率 10 %で 95 %～102 %，質量分率 0.1%で 90 %～108 %及び質量分率 0.01 %で 85 %～110 %であり，水溶性鉄（W-Fe）のいずれの回収率もこれらの許容範囲内であった.

表5 試料中の水溶性鉄（W-Fe）の試験成績

試験成分	試料	理論値	測定値	理論値との差	差の割合	回収率	標準偏差	相対標準偏差
		A[1)]（%）[2)]	B[3)]（%）[2)]	C[4)]（%）[2)]	D[5)]（%）	E[6)]（%）	F[7)]（%）[2)]	G[8)]（%）
W- Fe	Fe-10	10	10.11	0.11	1.1	101.1	0.06	0.6
	Fe-0.5	0.5	0.5138	0.01	2.8	102.8	0.001	0.2
	Fe-0.05	0.05	0.0535	0.0035	7.0	107.0	0.0018	3.3
	Fe-1	1	1.036	0.036	3.6	103.6	0.002	0.2
	Fe-0.1	0.1	0.1057	0.0057	5.7	105.7	0.001	0.6
	Fe-0.01	0.01	0.01051	0.00051	5.1	105.1	0.000052	0.5

1） 試料中の水溶性鉄（W-Fe）の含有量（理論値）
2） 質量百分率
3） 3点併行試験の平均値
4） C＝B－A
5） D＝（C／A）×100
6） E＝（B／A）×100
7） 3点併行試験の標準偏差
8） G＝（F／B）×100

3） 検出下限及び定量下限

定量下限確認用試料（表 2）を用いて 7 点併行で水溶性鉄（W-Fe）の試験を実施した結果を表 6 に示した. なお，定量下限は（標準偏差）×10 式，また，検出下限は（標準偏差）×2×t（n-1,0.05）式を用いて算出した[7)].

AOAC[6)]における濃度レベルにおける回収率の許容範囲は質量分率 0.01 %で 85 %～110 %及び質量分率 0.001 %で 80 %～115 %であり，参考のため比較したところ水溶性鉄（W-Fe）の粉状試料である Fe-0.01 及び液状試料 Fe-0.001 のいずれも回収率は許容範囲内であった. Fe-0.01 の推定定量下限値は質量分率 0.004 %，推定検出下限値は質量分率 0.001 %であり，Fe-0.001 の推定定量下限値は質量分率 0.0004 %，推定検出下限値は質量分率 0.0002 %であると評価できた.

表6　定量下限確認試験の成績

試験成分	試料	理論値[1)] (%)[2)]	平均値[3)] (%)[2)]	回収率[4)] (%)	標準偏差 (%)[2)]	推定定量下限値[5)] (%)[2)]	推定検出下限値[6)] (%)[2)]
W- Fe	Fe-0.01[7)]	0.01	0.0099	99.5	0.0004	0.004	0.001
W- Fe	Fe-0.001[8)]	0.001	0.00108	108.2	0.00004	0.0004	0.0002

1）試料中の鉄（Fe）の含有量（理論値）
2) 質量分率
3）7点併行試験の平均値
4) （平均値／理論値）×100
5）標準偏差×10
6）標準偏差×2×t（n-1,0.05）
7）粉状試料
8）液状試料

4）室間再現精度

クライテリア・アプローチにおける性能規準では室間再現精度が要求されるが，試験法の妥当性確認のための共同試験の実施には大きな労力がかかる．このことから，既報の外部精度管理試験[8)]のうち該当する試験法で実施された成績[9)]を適用することとし，それらの成績を表 7 に示した．なお，外部精度管理試験では，ロバスト法を用いて報告値の中央値及びロバスト標準偏差（NIQR）が算出されている．中央値及びNIQRは正規分布において平均値及び標準偏差に一致する．

液状複合肥料を用いて行われた外部精度管理試験の水溶性鉄（W-Fe）の中央値は質量分率 0.240 %で，ロバスト標準偏差（NIQR）は質量分率 0.013 %，その室間再現相対標準偏差は 5.4 %であった．また，水溶性鉄（W-Fe）の試験成績の HorRat 値は 1.09 であった．

なお，AOAC（OMA）[6)]における濃度レベル質量分率 1 %及び 0.1 %における室間再現精度の目安は 4 %及び 6 %であり，参考のため比較したところ水溶性鉄（W-Fe）の室間再現相対標準偏差はこれらの目安を下回った．

表7　外部精度管理試験成績

試験成分	試料の種類	試験年度	試験室数	中央値 A[1)]（%）[2)]	NIQR B[3)]（%）[2)]	RSD_R C[4)]（%）	PRSD D[5)]（%）	HorRat値 E[6)]
W-Fe	液状複合肥料	2012	86	0.240	0.013	5.4	5.0	1.09

1）中央値
2）質量分率
3）ロバスト標準偏差（NIQR）
4）室間再現相対標準偏差 C＝（B/A）×100
5）Horwitz修正式から算出された室間再現標準偏差
6）HorRat値 E＝C/D

4. まとめ

水溶性鉄（W-Fe）のフレーム原子吸光法の真度，定量・検出下限を調査したところ，次の結果を得た．

（1） 鉄（Fe）として質量分率 0.05 %～10 %含有する粉状試料についての水溶性鉄（W-Fe）の測定結果は，

回収率が 101.1 %～107.0 %であり，理論値と測定値との差の割合は，1.1 %～7.0 %であった.

（2） 水溶性鉄（W-Fe）として質量分率 0.01 %～1 %含有する液状試料についての水溶性鉄（W-Fe）の測定結果は，回収率が 103.6 %～105.7 %であり，理論値と測定値との差の割合は，3.6 %～5.7 %であった.

（3） 水溶性鉄（W-Fe）として質量分率 0.01 %含有する粉状試料を用いて定量下限及び検出下限を確認したところ，それぞれ質量分率 0.004 %，0.001 %程度と推定された。

（4） 水溶性鉄（W-Fe）として 0.001 %含有する液状試料を用いて定量下限及び検出下限を確認したところ，それぞれ質量分率 0.0004 %，0.0002 %程度と推定された。

（5） 外部精度管理試験より室間再現精度を調査したところ，液状複合肥料中の水溶性鉄（W-Fe）は，中央値が質量分率 0.240 %でロバスト標準偏差（NIQR）は質量分率 0.013 %，その室間再現相対標準偏差は 5.4 %であった.

（1）～（5）の成績は，肥料等試験法に収載された試験法が効果発現促進材として使用量を表示する水溶性鉄（Fe）の含有量を評価することができる性能を有していることを示しており，クライテリア・アプローチのガイドラインの水溶性鉄（W-Fe）試験法の性能規準を作成する際に，これらの試験成績は十分に参考になると考えられた.

文　献

1） ISO/IEC 17025 (2005): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories” （JIS Q 17025 :2006,「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」）

2） Codex Alimentarius Commission: “PROCEDURAL MANUAL, Twentieth edition, (2011) <ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/ProcManuals/Manual_20e.pdf>

3） 農林水産消費安全技術センター（FAMIC）：肥料等試験法 <http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html>

4） 農林水産省農業環境技術研究所：肥料分析法（1992 年版），日本肥糧検定協会，東京(1992)

5） 農林水産省告示：肥料取締法施行規則第十一条の二第一項及び第二項の規定に基づき原料及び材料の保証票への記載に関する事項を定める件，昭和 59 年 3 月 16 日，農林水産省告示第 700 号，最終改正平成 26 年 9 月 1 日，農林水産省告示第 1148 号 (2014)

6） AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals, AOAC INTERNATIONAL (2002)

7） Codex“Guideline on Analytical Terminology” ,CAC/GL 72-2009(2009)

8）ISO 13528 (2005): “Statical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons”（JIS Z 8405: 2008,「試験所間比較による技能試験のための統計的方法」）

9） 舟津正人，渡辺絵里菜，阿部 進，白井小枝，稲葉茂幸，八木啓二，白井裕治，上沢正志：2012 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析，肥料研究報告，**6**，61～83 (2013)

Verification of Performance Characteristics of Testing Method for Iron in Fertilizer by Atomic Absorption Spectrometry

Shinei TAKAHASHI[1], Chika SUZUKI[2] and Noriyuki SASAKI[2]

[1] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center
(Now) Fertilizer and Feed Inspection Department
[2] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center

We verified performance characteristics of testing method for water-soluble iron (W-Fe) by atomic absorption spectrometry described in Testing Methods for Fertilizers. The accuracy of testing methods for the several form of iron was assured from 3 replicate determinations of 6 fertilizer samples containing 0.01 % ~ 10 % iron which were prepared each test. As a result, the mean recoveries ranged from 101.1 % ~ 107.0 %. On the basis of 7 replicate measurements of each testing method of a solid sample and a liquid sample, the limit of quantitative value (LOQ) was estimated at 0.004 % and 0.0004 %, respectively. These results indicated that these methods performance characteristics were available in establishing criteria for a determination method of iron.

Key words　criteria approach, iron, atomic absorption spectrometry, Testing Methods for Fertilizers

(Research Report of Fertilizer, **7**, 131~137, 2014)

12 モリブデン試験法の性能調査

－チオシアン酸ナトリウム吸光光度法－

八木啓二[1]，豊留夏紀[1]，鈴木時也[2]，添田英雄[1]

キーワード クライテリア・アプローチ，モリブデン，チオシアン酸ナトリウム吸光光度法，肥料等試験法

1. はじめに

国際的な適合性評価の動きが進む中，我が国においても ISO/IEC 17025:2005（JIS Q 17025:2005）[1)]の要求事項を参考にした試験成績の信頼性確保の考え方が重要視されている．ISO/IEC 17025 では，国際・国家規格等又は妥当性が確認された方法を選定することを要求している．一方，品質の評価に用いる分析法を規格，公定法等で指定するのではなく，一定の規準（criteria）を満たす分析法ならば，適用可能としている．この考え方はクライテリア・アプローチ（Criteria Approach）と呼ばれており，化学物質を客観的に測定する分析法の評価に適用できることがコーデックス委員会において合意されている．食品を対象としているコーデックス分析法の性能規準に関する数値設定のためのガイドライン[2)]には適用範囲，真度，精度，定量下限等が設定されている．

しかしながら，肥料の試験法に要求される性能規準は，食品とは異なるため，新たに設定する必要がある．近年，新たに開発された方法についてはこれらの性能を調査して肥料等試験法[3)]に順次収載している．ただし，肥料分析法（1992 年版）[4)]の記載様式を書き替えた試験法には定量下限等が記載されていないため，それらの性能を調査する必要がある．このことから，筆者らは肥料等試験法[3)]に収載されている試験法のうち，効果発現促進材として使用量を表示する[5)]水溶性モリブデン（W-Mo）のチオシアン酸ナトリウム吸光光度法の精確さ等の性能を調査したので報告する．

2. 材料及び方法

1） 試料の調製

流通している肥料原料の中にはモリブデンが含まれているおそれがあることから，試料の調製にあたっては表1のとおり出来る限り各肥料原料の主成分に対応するJIS 規格に規定されている試薬特級を用いた．なお，粒状の試薬は乳鉢を用いて粉砕したものを用いた．流通している肥料の配合割合を参考に表 2 のとおり試薬を混合し，モリブデン（Mo）として質量分率 0.002 %～54.34%含有する試料を調製した．

2） 装置及び器具

（1） 分光光度計： 島津製作所 紫外可視分光光度計 UVmini-1240

（2） 上下転倒式回転振り混ぜ機： いすゞ製作所

[1] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター福岡センター

[2] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター福岡センター （現）肥飼料安全検査部

表1　試料の調製に使用する試薬

使用する試薬		対応する原材料名	
名称	規格	名称又は種類名（材料）	慣用名
硫酸アンモニウム	JIS K8960 特級	硫酸アンモニア	硫安
尿素	JIS K8731 特級	尿素	尿素
りん酸水素二カリウム	JIS K9017 特級		
塩化カリウム	JIS K8121 特級	塩化加里	塩加
七モリブデン酸六アンモニウム四水和物	JIS K8905 特級	効果発現促進材	
グルコース	JIS K8824 特級		
エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム二水和物	JIS K8107 特級	沈殿防止材	EDTA-Na

表2　試験に用いた水溶性モリブデン試料の配合割合　（質量分率 %）

使用する試薬	真度評価用試料		定量下限確認用試料	
	Mo-2.5	Mo-0.1	Mo-0.02	Mo-0.002
硫酸アンモニウム	20	10	10	5
尿素		10	10	
りん酸水素二カリウム	14	10	10	3
塩化カリウム			10	
七モリブデン酸六アンモニウム四水和物	4.64	0.185	0.037	0.0037
グルコース	51.36	59.815	49.963	
エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム二水和物	10	10	10	1.9963
水				90
Mo含有量	2.5	0.1	0.02	0.002

3）試薬の調製

（1）水： 水精製装置（日本ミリポア　Elix Advantage 5）を用いて精製した JIS K 0557 に規定する A3 相当の水を使用した.

（2） 硫酸： JIS K 8951 に規定する特級又は同等の品質の試薬.

（3） 過塩素酸： JIS K 8223 に規定する特級又は同等の品質の試薬.

（4） 硫酸鉄（Ⅲ）溶液： JIS K 8981 に規定する硫酸鉄（Ⅲ）5 g を硫酸（1+1）約 10 mL 及び適量の水に溶かし，更に水を加えて 100 mL とした.

（5） チオシアン酸ナトリウム溶液： JIS K 9002 に規定するチオシアン酸ナトリウム 50 g を水に溶かして 500 mL とした.

（6） 塩化すず（Ⅱ）溶液： JIS K 8136 に規定する塩化すず（Ⅱ）二水和物 50 g を塩酸（1+1）200 mL に加温して溶かしたのち，水を加えて 500 mL とし，JIS K 8580 に規定する少量の粒状すずを加えて着色瓶に貯蔵した.

（7） モリブデン標準液（1 mg/mL）： 酸化モリブデン（Ⅵ）をデシケーター中に約 24 時間放置して乾燥した後，1.500 g ひょう量皿にとった．少量の水で溶かし，全量フラスコ 1,000 mL に移し入れ，JIS K 8576 に規定する水酸化ナトリウム約 5 g を加えて溶かし、標線まで水を加えた.

(8) モリブデン標準液(0.01 mg/mL)： モリブデン標準液(1 mg/mL)の一定量を水で正確に 100 倍に希釈した.

(9) その他の試薬： 肥料等試験法[3)]に従った.

4） 試験成分及び試験方法

水溶性モリブデン(W-Mo)の抽出及び測定は表 3 のとおり肥料等試験法[3)]の試験方法を用いた. なお, 参考のため, 試験法のフローシート(図 1)を示した.

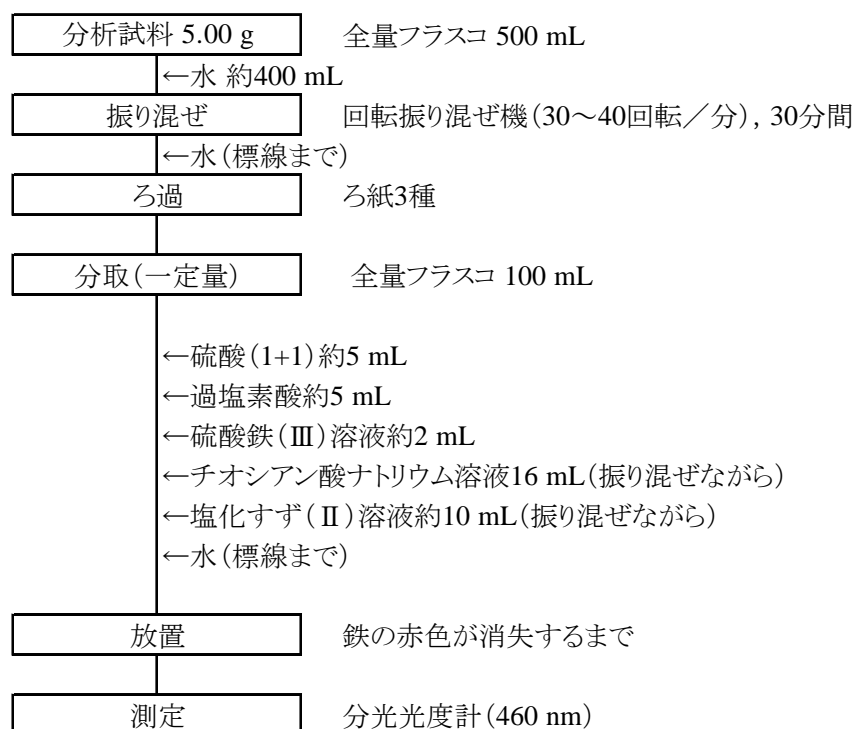



図1 肥料中の水溶性モリブデン試験法フローシート

表3 試験成分及び試験方法

試験成分	肥料等試験法の項目	試料溶液の調製方法
水溶性モリブデン(W-Mo)	4.14.1.a チオシアン酸ナトリウム吸光光度法	(4.1) 水回転振とう

3. 結果及び考察

1） 試料の調製に用いた七モリブデン酸六アンモニウム四水和物中のモリブデンの含有量

試料の調製に用いた七モリブデン酸六アンモニウム四水和物中のモリブデンの含有量を肥料等試験法(水溶性モリブデン)により 3 点併行で測定した結果を表 4 に示した. 平均値より算出した理論値に対する割合は質量分率 99.2 %であり, その相対標準偏差は 0.43 % と小さかった. このことから, 試料の調製では理論値を用いて配合設計を行った.

表4 試料の調製に用いた七モリブデン酸六アンモニウム四水和物中の水溶性モリブデンの測定値

試料	理論値[1)] (%)[4)]	平均値[2)] (%)[4)]	標準偏差 (%)[4)]	理論値に対する割合[3)] (%)	相対標準偏差 (%)
七モリブデン酸六アンモニウム四水和物（W-Mo）	54.34	53.93	0.23	99.2	0.43

1) 七モリブデン酸六アンモニウム四水和物中のモリブデン（Mo）理論値
2) 水溶性モリブデン（Mo）の3点併行試験の平均値
3) （平均値／理論値）×100
4) 質量分率

2） 真度評価結果

真度評価用試料（表 2）を用いて 3 点併行で水溶性モリブデン（W-Mo）の試験を実施した成績を表 5 に示した．

農林水産省告示[5)]において，効果発現促進材の使用量等は家庭園芸用肥料以外の普通肥料にあっては，保証票に表示することが義務づけられている．よって，水溶性モリブデン（W-Mo）の設計値と試験法の測定値の差について算出した．水溶性モリブデン（W-Mo）として質量分率 0.1 %及び 2.5 %含有する試料について測定したところ，設計値と測定値との差は質量分率 0.001 %，0.01 %であり，設計値に対する回収率は，100.2 %，100.8 %であった．このことから，この試験法は，普通肥料（家庭園芸用肥料以外）の水溶性モリブデン（W-Mo）の使用量の評価を得るのに十分な正確さを有していることが確認された．

なお，AOAC[6)]における濃度レベルにおける回収率の許容範囲は濃度 1 %で 92 %～105 %，0.1 %で 90 %～108 %であり，参考のため比較したところモリブデン（Mo）のいずれの回収率もこれらの許容範囲内であった．

表5 試料中のモリブデン（Mo）の試験成績

試験成分	試料	設計値 A[1)] (%)[2)]	測定値 B[3)] (%)[2)]	設計値との差 C[4)] (%)[2)]	差の割合 D[5)] (%)	回収率 E[6)] (%)	標準偏差 F[7)] (%)[2)]	相対標準偏差 G[8)] (%)
W-Mo	Mo-2.5	2.5	2.51	0.01	0.2	100.2	0.01	0.4
	Mo-0.1	0.1	0.101	0.001	0.8	100.8	0.002	1.6

1) 試料中のモリブデン（Mo）の含有量（設計値）
2) 質量分率
3) 3点併行試験の平均値
4) C＝B－A
5) D＝（C／A）×100
6) E＝（B／A）×100
7) 3点併行試験の標準偏差
8) G＝（F／B）×100

3） 検出下限及び定量下限

定量下限確認用試料（表 2）を用いて 7 点併行で水溶性モリブデン（W-Mo））試験を実施した結果を表 6 に示した．なお，定量下限は「（標準偏差）×10」式，また，検出下限は「（標準偏差）×2×t（n-1,0.05）」式を用いて算出した[7)]．

Mo-0.02 の結果から，粉状試料の定量下限値は質量分率 0.006 %程度，検出下限値は質量分率 0.003 %程度であると推定した．なお，AOAC[6]における濃度レベルにおける回収率の許容範囲は質量分率 0.01 %で 85 %～110 %であり，Mo-0.02 の水溶性モリブデン（W-Mo）の回収率は許容範囲であった．

また、Mo-0.002 の結果から，液状試料の定量下限値は質量分率 0.0006 %程度，検出下限値は質量分率 0.0003 %程度であると推定した．なお，AOAC[6]における濃度レベルにおける回収率の許容範囲は質量分率 0.001 %で 80 %～115 %であり，Mo-0.002 の水溶性モリブデン（W-Mo）の回収率は許容範囲内であった．

表6 定量下限確認試験の成績 （質量分率 %）

試験成分	試料	設計値[1)]	平均値[2)]	標準偏差	推定定量下限値[3)]	推定検出下限値[4)]
W-Mo	Mo-0.02	0.02	0.0202	0.0006	0.006	0.003
W-Mo	Mo-0.002	0.002	0.00171	0.00006	0.0006	0.0003

1） 試料中のモリブデン（Mo）の含有量（設計値）
2） 7点併行試験の平均値
3） 標準偏差×10
4） 標準偏差×2×t（n-1,0.05）

4） 室間再現精度

クライテリア・アプローチにおける性能規準では室間再現精度が要求されるが，試験法の妥当性確認のための共同試験の実施には大きな労力がかかる．このことから，既報の外部精度管理試験[8)]のうち該当する試験法で実施された成績[9)]を適用することとし，それらの成績を表 7 に示した．なお，外部精度管理試験では，ロバスト法を用いて報告値の中央値及びロバスト標準偏差（NIQR）が算出されている．中央値及びNIQRは正規分布において平均値及び標準偏差に一致する．

水溶性モリブデン（W-Mo）の中央値が質量分率 0.210 %で，その NIQR は質量分率 0.010 %，その室間再現相対標準偏差は 4.7 %であった．また，水溶性モリブデン（W-Mo）の試験成績の HorRat 値は 0.92 であった．

なお，AOAC[6)]における濃度レベル質量分率 1 %及び 0.1 %における室間再現精度の目安は 4 %及び 6 %であり，参考のため比較したところ水溶性モリブデン（W-Mo）の室間再現相対標準偏差はこれらの目安を下回った．

表7 外部精度管理試験成績

試験成分	試料の種類	試験年度	試験室数	中央値 A[1)]（%）[2)]	NIQR B[3)]（%）[2)]	RSD_R C[4)]（%）	PRSD D[5)]（%）	HorRat値 E[6)]
W-Mo	液状複合肥料	2012	52	0.210	0.010	4.7	5.1	0.92

1） 中央値
2） 質量分率
3） ロバスト標準偏差（NIQR）
4） 室間再現相対標準偏差 C＝（B/A）×100
5） Horwitz修正式から算出された室間再現標準偏差
6） HorRat値 E＝C/D

4. まとめ

水溶性モリブデン（W-Mo）のチオシアン酸ナトリウム吸光光度法の真度，定量･検出下限及び室間再現精度を調査したところ，次の結果を得た．

（1） 水溶性モリブデン（W-Mo）として質量分率 0.1 %及び 2.5 %含有する試料について測定したところ，設計値と測定値との差は質量分率 0.001 %，0.01 %であり，設計値に対する回収率は，100.2 %，100.8 %であった．

（2） 水溶性モリブデン（W-Mo）として質量分率 0.02 %に調製した粉状試料を用いて定量下限及び検出下限を確認したところ，質量分率 0.006 %及び 0.003 %程度と推定された． また，水溶性モリブデン（W-Mo）として質量分率 0.002 %に調製した粉状試料を用いて定量下限及び検出下限を確認したところ，質量分率 0.0006 %及び 0.0003 %程度と推定された．

（3） 外部精度管理試験より室間再現精度を調査したところ，水溶性モリブデン（W-Mo）は，中央値が質量分率 0.210 %でそのロバスト標準偏差（NIQR）は質量分率 0.010 %，その室間再現相対標準偏差は 4.7 %であった．

（1）～（3）の成績は，肥料等試験法[3]に収載された試験法が効果発現促進材として使用量を表示する水溶性モリブデン（W-Mo）の含有量を評価することができる性能を有していることを示しており，クライテリア･アプローチのガイドラインの水溶性モリブデン（W-Mo）試験法の性能規準を作成する際に，これらの試験成績は十分に参考になると考えられた．

文　献

1） ISO/IEC 17025 (2005): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories” （JIS Q 17025 :2006,「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」）

2） Codex Alimentarius Commission: “PROCEDURAL MANUAL, Twentieth edition, (2011) <ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/ProcManuals/Manual_20e.pdf>

3） 独立行政法人農林水産消費安全技術センター（FAMIC）：肥料等試験法 <http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html>

4） 農林水産省農業環境技術研究所：肥料分析法（1992 年版），日本肥糧検定協会，東京(1992)

5） 農林水産省告示：肥料取締法施行規則第十一条の二第一項及び第二項の規定に基づき原料及び材料の保証票への記載に関する事項を定める件，昭和 59 年 3 月 16 日，農林水産省告示第 700 号，最終改正平成 26 年 9 月 1 日，農林水産省告示第 1148 号 (2014)

6） AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals, AOAC INTERNATIONAL (2002)

7）Codex: “Guideline on Analytical Terminology”, CAC/GL 72-2009 (2009) <www.codexalimentarius.net/download/standards/11357/cxg_072e.pdf>

8）ISO 13528 (2005): “Statical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons”（JIS Z 8405: 2008,「試験所間比較による技能試験のための統計的方法」）

9） 舟津正人，渡辺絵里菜，阿部 進，白井小枝，稲葉茂幸，八木啓二，白井裕治，上沢正志：2012 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析，肥料研究報告，**6**，61～83 (2013)

Verification of Performance Characteristics of Testing Methods for Water-soluble Molybdenum Content in Fertilizer by Sodium Thiocyante Absorptiometric Analysis

Keiji YAGI[1], Natuki TOYODOME[1], Tokiya SUZUKI[2] and Hideo SOETA[1]

[1] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fukuoka Regional Center
[2] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fukuoka Regional Center
(Now) Fertilizer and Feed Inspection Department

We verified performance characteristics of testing methods for water-soluble molybdenum (W-Mo) by sodium thiocyanate absorptiometric analysis described in Testing Methods for Fertilizers. The accuracy of testing methods for the several form of manganese was assured from 3 replicate determinations of 2 fertilizer samples containing 0.1 % ~ 2.5 % water-soluble molybdenum which were prepared each test. As a result, the mean recoveries ranged from 100.2 % ~ 100.8 %. On the basis of 7 replicate measurements of each testing method of a solid sample and a liquid sample, the limit of quantitative value (LOQ) was estimated at 0.006 % and 0.0006 %, respectively. Reported in Research Report of Fertilizer, medians, normalize interquartile ranges (NIQR) and relative standard deviations (RSD_R) for reproducibility of water-soluble molybdenum obtained by proficiency testings were 0.210 %, 0.010 % and 4.7 %, respectively. These results indicated that these methods performance characteristics were available in establishing criteria for a determination method of water-soluble molybdenum.

Key words criteria approach, molybdenum, sodium thiocyanate absorptiometric analysis, Testing Methods for Fertilizers

(Research Report of Fertilizer, **7**, 138~144, 2014)

13　抽出における操作時間が鉱さいけい酸質肥料のく溶性苦土の測定に及ぼす影響

五十嵐総一[1], 木村康晴[2]

キーワード　鉱さいけい酸質肥料, く溶性苦土, 肥料等試験法

1. はじめに

国際的な適合性評価の動きが進む中, 我が国においても ISO/IEC 17025（JIS Q 17025）[1)]の要求事項を参考にした試験成績の信頼性確保についての考え方が重視されている. その要求事項には, 他機関との試験成績の整合性確認及び外部機関による試験成績の信頼性の確保が必須となっており, 試験所は共通試料による試験室間の共同試験に参加して外部精度管理を実施する等, 試験の信頼性確保に努めている. 我が国の肥料生産事業場の品質管理室, 肥料検査機関の試験所等においては, 2006 年度より全国共通の試料を用いた共同試験（以下,「外部精度管理試験」という）が実施されている. 共通試料としては複合肥料及び鉱さいけい酸質肥料が用いられており, 外部精度管理試験成績については ISO/IEC 13528 （JIS Z 8405）[2)]を参考にロバスト法を用いて解析され, 中央値（Median）, ロバスト標準偏差（NIQR）, ロバスト相対標準偏差（RSD_{rob}）等を算出し, 各試験室の試験成績が z スコアにより評価されている.

2006 年度～2012 年度の外部精度管理試験[3～9)]の鉱さいけい酸質肥料のく溶性苦土（C-MgO）の RSD_{rob} を比較したところ[9)], 2.1 %～2.8 %の成績と6.6 %～8.7 %の成績に区分けされた. その原因を調査したところ, その製法（冷却方法）による影響が認められた. このことから, 細やかな操作条件又は試験法には記述されていない操作変更による測定値への及ぼす影響（いわゆる試験法の頑健性）について調査を実施し, 抽出操作における溶液の加温状態の時間による影響に関する知見を得たので, その概要を報告する.

2. 材料及び方法

1） 供試試料

常温で保管されていた 2009 年度～2012 年度の外部精度管理試験用試料の鉱さいけい酸質肥料（以下,「鉱さいけい酸質肥料-09」～「鉱さいけい酸質肥料-12」という. ）を選び, 更に対照として 2011 年度の外部精度管理試験用試料の高度化成肥料（以下,「高度化成肥料-11」という. ）を分析用試料とした.

2） 機器

（1） 原子吸光分析装置： 日本ジャーレル・アッシュ SOLAAR S4
（2） 上下転倒式回転振り混ぜ機（恒温機能付き）： 増田理化工業 MK-41

3） 試薬等の調製及び試験操作

試薬等の調製及び試験操作は肥料等試験法[10)]に準拠して実施した. 試験法の概要を図 1 のフローチャート

[1] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター　（現）福岡センター
[2] 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター

に示した.

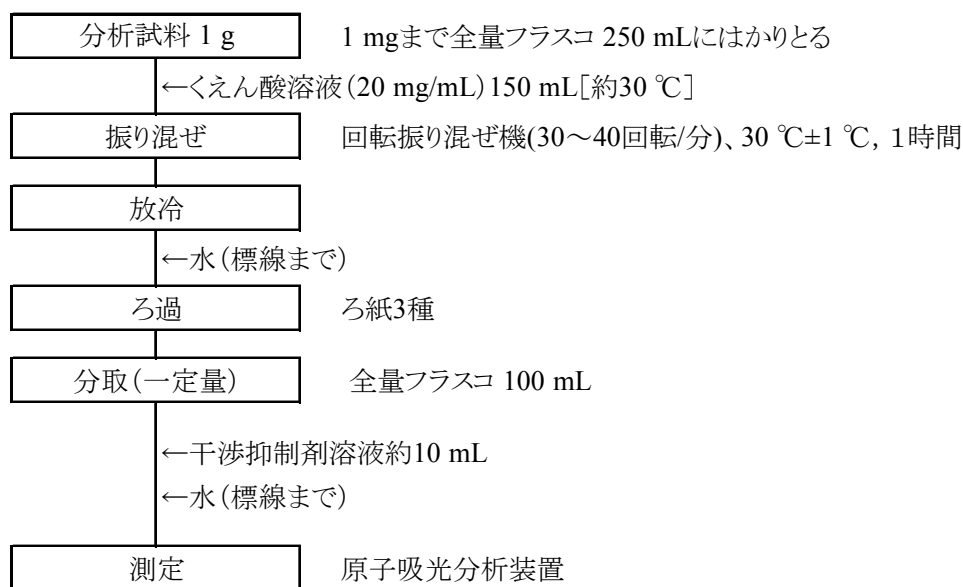



図1　肥料中のく溶性苦土試験法フローシート

3. 結果及び考察

1） 過去の外部精度管理試験成績の傾向

外部精度管理試験用試料は，毎年異なる生産事業場の複合肥料及び鉱さいけい酸質肥料を用い，前者は目開き 500 μm の網ふるいを，後者は目開き 212 μm の網ふるいを全通するまで粉砕し，混合・小分けし，調製された．複合肥料の試験項目は，毎年度異なるが，水分，窒素全量，アンモニア性窒素，可溶性りん酸，水溶性りん酸，く溶性加里，水溶性加里，く溶性苦土，ひ素，カドミウム等が対象とされ，鉱さいけい酸質肥料は可溶性けい酸，アルカリ分，く溶性苦土が対象とされている．試験成績はロバスト法[2)]により解析され， Median，NIQR，RSD_{rob}，HorRat 値が算出されている．

2007 年度から 2012 年度の各成分の Median と RSD_{rob} との関係を図 2 に示し，Horwitz 修正式[11～13)]から得られた平均的な室間再現標準偏差（Horwitz’ SD: HSD）を用いて室間再現相対標準偏差の予測値($PRSD_R$)を算出し，$PRSD_R$×0.5 及び $PRSD_R$×2 を同図に表示した．その結果，複合肥料の水分及び鉱さいけい酸質肥料の C-MgO を除いた各試験成分の RSD_{rob} は，$PRSD_R$ の周辺に分布しており，$PRSD_R$×2 を超えなかった．Codex においては食品中の化学分析の室間相対標準偏差（RSD_R）は $PRSD_R$×2（HorRat≦2）までが許容されている．く溶性苦土（C-MgO）は，$PRSD_R$×2 付近に分布するグループがあり，一部周辺に分布しており，$PRSD_R$×2 を超えていた．肥料には Horwitz 式が適用された事例は少ないが，C-MgO の RSD_{rob} は他の成分のとは異なる分布が認められた．なお，水分の RSD_{rob} が他の成分とは異なる分布であったのは，Horwitz 式が検討された際に水分等の物理的項目が除外されたことから適用することが困難と考えられる．

これらのことから，2007 年度から 2012 年度の C-MgO の Median，NIQR，RSD_{rob}，$HorRat_{rob}$ 値等と，また，参考のため 2011 年度の高度化成肥料の C-MgO の同様の項目を表 1 に示した．その結果，2008 年度，2010 年度及び 2012 年度の鉱さいけい酸質肥料の C-MgO の RSD_{rob} は 2.1 %～2.8 %であり，高度化成肥料の同成分の RSD_{rob}（2.8 %）と近似していた．しかしながら，2007 年度，2009 年度及び 2011 年度の鉱さいけい酸質肥料の同成分の RSD_{rob} は 6.6 %～8.7 %であり，明らかに他の年度の成績との差が認められた．

これらの調査結果を踏まえ，年度ごとにC-MgOのRSD_{rob}が異なった原因について供試試料を用いて調査することとした．

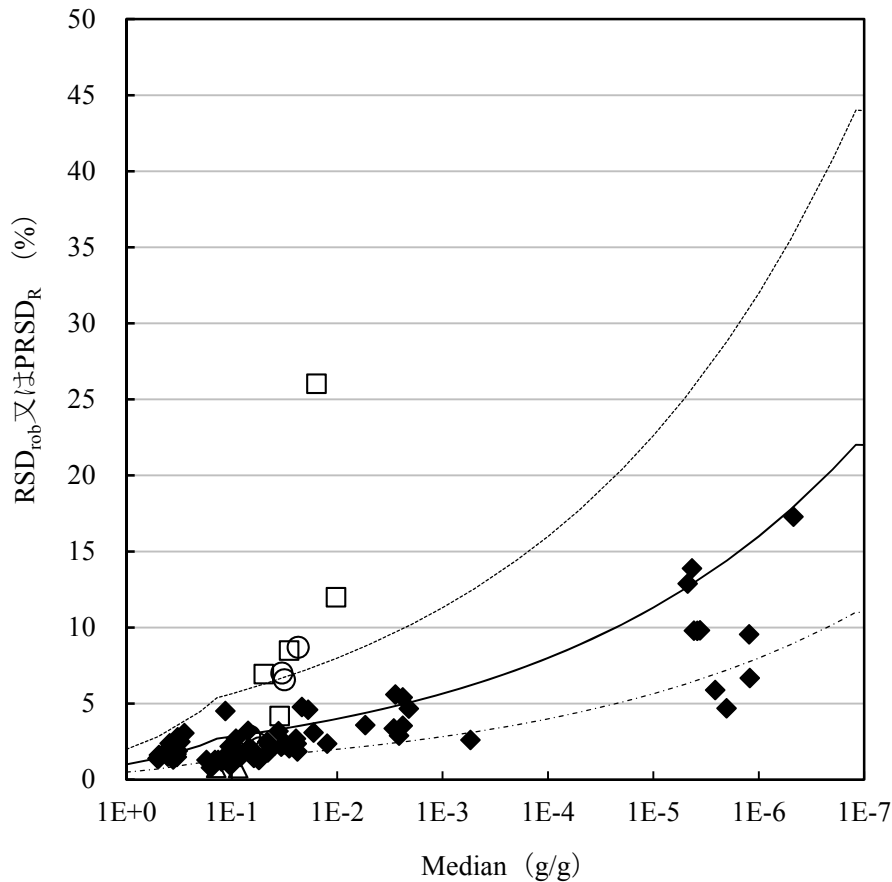



図2　2007年度から2012年度の外部精度管理試験の室間再現精度（RSD_{rob}）の分布
○：く溶性苦土（C-MgO），□：水分，△：窒素全量，◆：その他の成分
———：$PRSD_R$　———：$PRSD_R$×2　－・－・－：$PRSD_R$×0.5

表1　鉱さいけい酸質肥料のく溶性苦土（C-MgO）の外部精度管理試験成績

実施年度	肥料の種類	参加試験室数	Median[1)] (%)[6)]	NIQR[2)] (%)[6)]	RSD_{rob}[3)] (%)	$HorRat_{rob}$[4)]	HSD[5)] (%)[6)]
2007	鉱さいけい酸質肥料	86	3.17	0.21	6.6	1.95	0.11
2008	鉱さいけい酸質肥料	89	5.80	0.14	2.4	0.79	0.18
2009	鉱さいけい酸質肥料	87	2.34	0.20	8.7	2.48	0.08
2010	鉱さいけい酸質肥料	88	5.42	0.11	2.1	0.67	0.17
2011	鉱さいけい酸質肥料	78	3.36	0.23	6.8	2.05	0.11
2012	鉱さいけい酸質肥料	81	6.77	0.19	2.8	0.94	0.20
2011	高度化成肥料	128	2.48	0.07	2.8	0.81	0.09

1）全体の中央値
2）ロバスト標準偏差
3）ロバスト相対標準偏差
4）ロバスト標準偏差から求めたHorRat値
5）Horwitz修正式より得られた平均的な室間再現標準偏差
6）質量分率

2） 抽出時間の影響

1）の調査結果から，それぞれ RSD_{rob} の異なる傾向の代表として鉱さいけい酸質肥料-11 及び鉱さいけい酸質肥料-12 を，更に対照として高度化成肥料-11 を用いて，0 分間から 75 分間まで 15 分間隔で抽出時間を設定し，その他の操作は肥料等試験法[10)]に従って 2 点併行で C-MgO を測定した結果を図 3 に示した．

高度化成肥料-11 の C-MgO の測定値は抽出時間 15 分間～75 分間で質量分率 2.55 %～2.65 %であり，抽出時間 15 分間で十分に抽出されていた．鉱さいけい酸質肥料-12 の C-MgO の測定値は抽出時間 15 分間～60 分間まで徐々に高くなり，60 分間で質量分率 7.27 %となり，75 分間で質量分率 7.29 %であった．鉱さいけい酸質肥料-12 の C-MgO は抽出時間 60 分間で十分に抽出されていた．しかしながら，鉱さいけい酸質肥料-11 の C-MgO の測定値は，抽出時間 15 分間～75 分間まで徐々に高くなりつづけ，45 分間で質量分率 2.64 %，60 分間で質量分率 2.98 %及び 75 分間で 3.28 %であり，明らかに抽出時間による差が認められた．

肥料等試験法の 4.6.2 く溶性苦土 4.6.2.a フレーム原子吸光法（4）試験操作（4.1）抽出 b）には「約 30 ℃に加温したくえん酸溶液 150 mL を加え，30～40 回転／分（30 ℃±1 ℃）で 1 時間振り混ぜる．」と記述されているが，この抽出時間を厳守しないと C-MgO の測定値に影響がある種類の肥料があることが認められた．

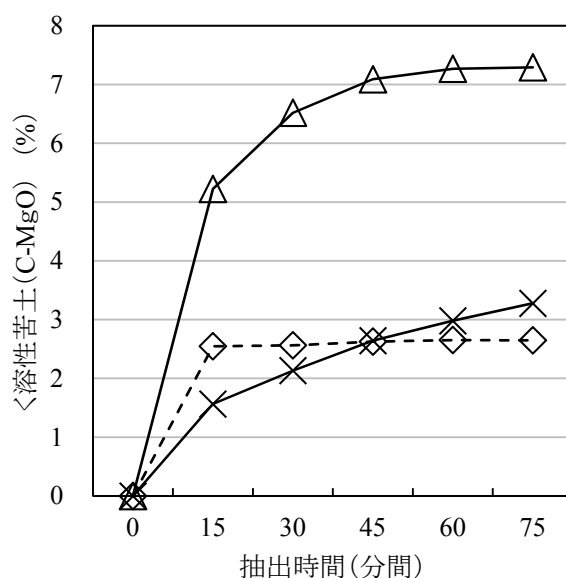



図3 抽出時間がく溶性苦土（C-MgO）の測定値に及ぼす影響

- -◇- - 高度化成肥料-11
—×— 鉱さいけい酸質肥料-11
—△— 鉱さいけい酸質肥料-12

3） 抽出後の放冷中の変化

肥料等試験法[10)]の 4.6.2 く溶性苦土 4.6.2.a フレーム原子吸光法（4）試験操作（4.1）抽出 c）には「放冷後，標線まで水を加える．」と記述されているが，放冷時間については規定されていない．このことから，鉱さいけい酸質肥料-09，鉱さいけい酸質肥料-10，鉱さいけい酸質肥料-11，鉱さいけい酸質肥料-12 及び高度化成肥料-11 を用いて，0 時間から 6 時間まで 2 時間間隔で放置時間を設定し，その他の操作は肥料等試験法に従って 2 点併行で C-MgO を測定した結果を図 4 に示した．

鉱さいけい酸質肥料-10，鉱さいけい酸質肥料-12 及び高度化成肥料-11 の C-MgO の測定値は放置時間 0 時間で質量分率 5.63 %，7.15 %及び 2.60 %であり，放置時間 2 時間～6 時間の測定値は放置時間 0 時間の測定値の質量分率 0.08 %の幅にあり，放置による溶出は認められなかった．しかしながら，鉱さいけい酸質肥料-09 及び鉱さいけい酸質肥料-11 の C-MgO の測定値は放置時間 0 時間で質量分率 2.23 %及び 2.93 %であり，放置時間が長くなるほど高くなり，放置時間 2 時間の測定値は放置時間 0 時間の測定値より質量分率 0.31 %及び 0.39 %増加した．

肥料等試験法の C-MgO の試験操作（4.1）抽出 c）における「放冷後，」及び次のろ過の操作まで迅速に実施しないと C-MgO の測定値に影響がある種類の肥料があることが認められた．

図4　放置時間がく溶性苦土（C-MgO）測定値に及ぼす影響

図5　抽出温度がく溶性苦土（C-MgO）の測定値に及ぼす影響

4）　抽出温度の影響

肥料等試験法[10)]では抽出に用いる装置として 30 ˚C±1 ˚C に調節できる恒温回転振り混ぜ機が規定されていることから，抽出温度が C-MgO の測定値に及ぼす影響を調査することとした．鉱さいけい酸質肥料-11，鉱さいけい酸質肥料-12 及び高度化成肥料-11 を用いて，冬季の室温として 20 ˚C，中間温度の 25 ˚C 及び規定されている 30℃に設定してその他の操作は肥料等試験法に従って 2 点併行で C-MgO を測定した結果を図 5 に示した．

高度化成肥料-11 の C-MgO の測定値は抽出温度 30 ˚C で質量分率 2.63 %であり，20 ˚C で質量分率 2.60 %であり，抽出温度による C-MgO の測定値の差は認められなかった．しかしながら，鉱さいけい酸質肥料-11 及び鉱さいけい酸質肥料-12 の C-MgO の測定値は抽出温度 30 ˚C で質量分率 2.96 %及び 7.20 %であり，抽出温度が低くなるほど低くなり，20 ˚C の測定値は 30 ˚C の測定値より質量分率 0.84 %及び 0.62 %低くなった．

このことから，鉱さいけい酸質肥料の C-MgO の抽出において抽出温度の確認は不可欠と考えられた．

5）試料粒度の影響

外部精度管理試験用試料の搬送時の振動によって粒度分布の均一性が損なわれたことを想定して，C-MgO の測定値に及ぼす影響を調査することとした．鉱さいけい酸質肥料-11 及び高度化成肥料-11 を秤量管に採取し，振動を与えて粒度分離した後の試料を写真 1 に示した．粒度の違いによる影響を見るため，分離した表層部の大粒部分，下層の小粒部分及びそれらを混合した 3 種類の分析試料を用い，肥料等試験法[10)]に従って 2 点併行で C-MgO を測定した結果を図 6 に示した．

鉱さいけい酸質肥料-11 及び高度化成肥料-11 の C-MgO の測定値は混合の分析試料で質量分率 2.87 %及び 2.56 %であり，大粒部分及び小粒部分の分析試料の測定値は混合の分析試料の測定値の質量分率 0.09 %の幅にあり，粒度分布による測定値の差は認められなかった．

このことから，外部精度管理試験用試料の搬送時に粒度による分離が起こっても C-MgO の測定に影響を与えないことが確認された．

写真 1 試料の粒度分離

左側:化成肥料，　右側:鉱さいけい酸質肥料

6）抽出溶液のくえん酸濃度の影響

肥料等試験法[10)]では抽出に用いるくえん酸溶液は「JIS K 8283 に規定するくえん酸一水和物 20 g を水に溶かして 1,000 mL とする．」と記述されていることから，くえん酸溶液の濃度が C-MgO の測定値に及ぼす影響を調査することとした．鉱さいけい酸質肥料-11，鉱さいけい酸質肥料-12 及び高度化成肥料-11 を用いて，くえん酸一水和物として 1.9 w/v%，2.0 w/v%及び 2.1 w/v%の抽出溶液を調製し，その他の操作は肥料等試験法に従って 2 点併行で C-MgO を測定した結果を図 7 に示した．

鉱さいけい酸質肥料-11，鉱さいけい酸質肥料-12 及び高度化成肥料-11 の C-MgO の測定値はくえん酸一水和物として 2.0 w/v%での抽出溶液で質量分率 2.63 %，2.95 %及び 7.16 %であり，1.9 w/v%及び 2.1 w/v%の濃度の抽出溶液の測定値は 2.0 w/v%の濃度の測定値の質量分率 0.05 %の幅にあり，この抽出溶液のくえん酸の

濃度範囲による測定値の差は認められなかった.

このことから，抽出液としてのくえん酸一水和物の濃度は 2.0 w/v%±0.1 w/v%では C-MgO の測定に影響を与えないことが確認された.

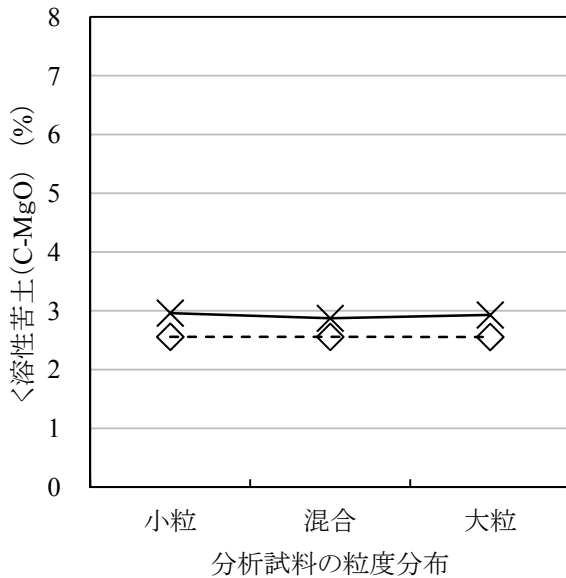



図6 分析試料の粒度分布がく溶性苦土（C-MgO）の測定値に及ぼす影響

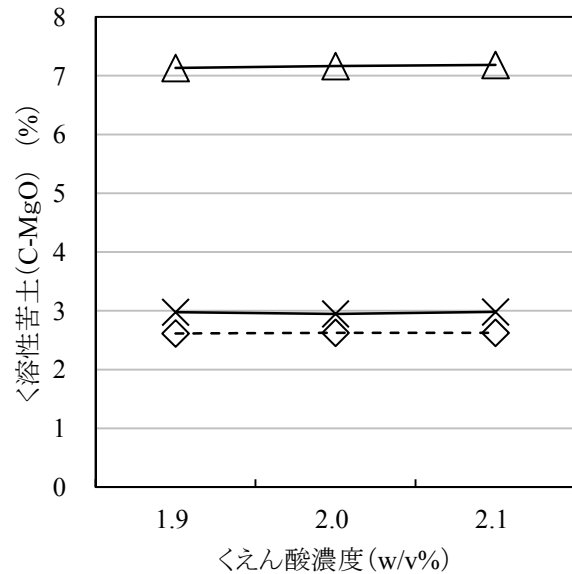



図7 抽出溶液のくえん酸濃度がく溶性苦土（C-MgO）の測定値に及ぼす影響

7） 外部精度管理試験用試料の原料及び製法とその性状

外部精度管理試験用試料の原料及びその製法の遡及調査の結果を表 2 に示した．放置時間による C-MgO の測定値に影響が認められた鉱さいけい酸質肥料-09 及び鉱さいけい酸質肥料-11 は徐冷品であり，それらの影響が認められなかった鉱さいけい酸質肥料-10 及び鉱さいけい酸質肥料-12 は水砕品であった．鉱さいけい酸質肥料の製法を確認するため，くえん酸溶液で洗浄し微粉末を除去した試料の顕微鏡画像（倍率：100 倍）を写真 2 に示した．外部精度管理試験用試料は目開き 212 μm の網ふるいを全通するまで粉砕されていることもあって，検鏡では製法の判定が困難であった.

鉱さいけい酸質肥料-09～鉱さいけい酸質肥料-11 の分析試料について，肥料等試験法[10]に従ってくえん酸溶液を加えて振とう後の溶液の状態は，写真 3 に示した．徐冷品である鉱さいけい酸質肥料-09 及び鉱さいけい酸質肥料-11 の溶液は白濁しており，一方，水砕品である鉱さいけい酸質肥料-10 及び鉱さいけい酸質肥料-12 の溶液は前者より明らかに不溶解物が少なかった.

肥料取締法に基づき普通肥料の公定規格[14]の肥料の種類の欄には「鉱さいけい酸質肥料（製りん残さい又は製銑鉱さい等の鉱さいをいい，ほう素質肥料を混合して熔融したものを含む．）」と，また，その他の制限事項の欄には「一 可溶性けい酸が 20 %以上のものにあつては，2 ミリメートルの網ふるいを全通し，かつ，水砕した鉱さい以外のものにあつては，600 マイクロメートルの網ふるいを 60 %以上通過すること．」と記述されている．このことは，徐冷品は微粉末にすることが求められており，溶解しにくいことを示しており，今回の試験結果とも一

致していた.

表2　外部精度管理試験用試料の鉱さいけい酸質肥料の原料及びその製法

実施年度	原料	原料の製法 (冷却方法)
2008	製鉄鉱さい	水砕
2009	シリコマンガン鉱さい＋高炉さい	徐冷
2010	高炉	水砕
2011	転炉	徐冷
2012	高炉	水砕

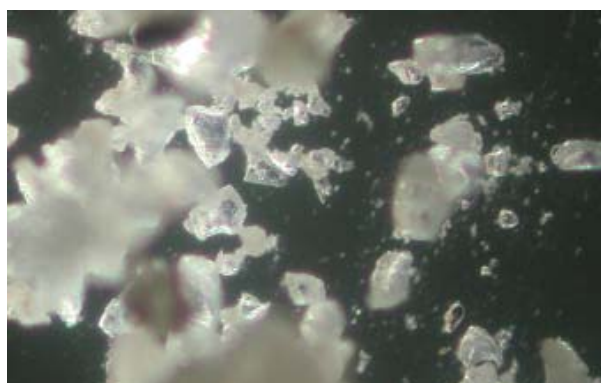
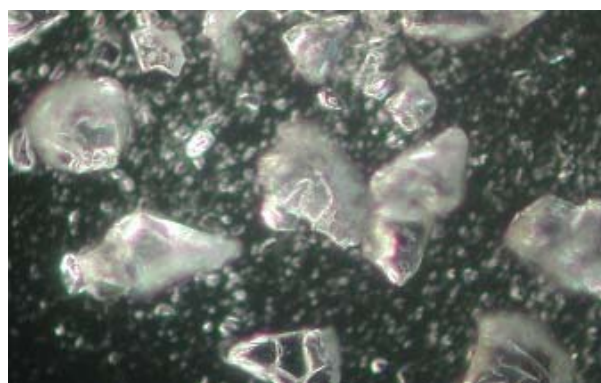
1）鉱さいけい酸質肥料-09　　2）鉱さいけい酸質肥料-10

3）鉱さいけい酸質肥料-11　　4）鉱さいけい酸質肥料-12

写真 2　外部精度管理試験用試料（鉱さいけい酸質肥料）の顕微鏡画像

倍率：100 倍

1）鉱さいけい酸質肥料-09　2）鉱さいけい酸質肥料-10　3）鉱さいけい酸質肥料-11　4）鉱さいけい酸質肥料-12

写真 3　抽出操作（恒温回転振とう）後の溶液の状態

表3　鉱さいけい酸質肥料のく溶性苦土（C-MgO）の外部精度管理試験成績（その2）

実施年度	肥料の種類	参加試験室数	Median[1)] (%)[6)]	NIQR[2)] (%)[6)]	RSD_{rob}[3)] (%)	$HorRat_{rob}$[4)]	HSD[5)] (%)[6)]
2007	鉱さいけい酸質肥料	86	3.17	0.21	6.6	1.95	0.11
2009	鉱さいけい酸質肥料	87	2.34	0.20	8.7	2.48	0.08
2011	鉱さいけい酸質肥料	78	3.36	0.23	6.8	2.05	0.11
2013	鉱さいけい酸質肥料	79	3.77	0.14	3.6	1.11	0.12

1）全体の中央値
2）ロバスト標準偏差
3）ロバスト相対標準偏差
4）ロバスト標準偏差から求めたHorRat値
5）Horwitz修正式より得られた平均的な室間再現標準偏差
6）質量分率

8）2013 年度外部精度管理試験結果について

以上の結果を踏まえ，2013 年度の外部精度管理試験[15)]の実施要領に鉱さいけい酸質肥料の C-MgO の測定の注意事項として「試料溶液調製時は抽出時間の 1 時間を厳守し，急冷後直ちにろ過を行うこと.」と記述して注意喚起した. 2007 年度～2013 年度の徐冷品の鉱さいけい酸質肥料を用いて実施した外部精度管理試験成績を表 3 に示した. 2013 年度の C-MgO の RSD_{rob} は 3.6 %であり，2007 年度～2011 年度の RSD_{rob} である 6.6 %～8.7 %に比較して小さい値であった. また，2013 年度の $HorRat_{rob}$ 値が 1.11 であり，NIQR（質量分率 0.14 %）が Horwitz 式から得られた平均的な室間再現標準偏差（HSD，質量分率 0.12 %）に近似していることが伺えた. また，2013 年度の C-MgO の Median は質量分率 3.77 %であり，2007 年度～2011 年度の Median は質量分率 2.34 %～3.36 %であり，ほぼ同等の値であった.

このことから，徐冷品の鉱さいけい酸質肥料においても，抽出時間を厳守し，その後の試料溶液調製操作を迅速に実施することにより，室間再現精度が改善することが認められた.

4. まとめ

外部精度管理試験用試料の材料に徐冷品の鉱さいけい酸質肥料を用いた場合のく溶性苦土（C-MgO）の室間再現相対標準偏差（RSD_{rob}）は 6.8 %～8.7 %であり，水砕品を用いた場合の RSD_{rob}（2.1 %～2.8 %）より明らかに劣っていた．この原因を調査したところ，徐冷品の鉱さいけい酸質肥料の分析試料では抽出時間及び放冷時間の設定により，C-MgO の測定値が変動することが確認された．このことから，2013 年度の実施要領に鉱さいけい酸質肥料のC-MgOの測定の注意事項として「試料溶液調製時は抽出時間の1時間を厳守し，急冷後直ちにろ過を行うこと．」と記載して外部精度管理試験を実施したところ，C-MgO の RSD_{rob} 3.6 %と大幅に改善された．

文 献

1） ISO/IEC 17025 (2005): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories”（JIS Q 17025 :2005,「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」）
2） ISO/IEC 13528 (2005): “Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons”（JIS Z 8405 : 2008,「試験所間比較による技能試験のための統計的方法」）
3） 杉村 靖，加藤公栄，齊木雅一，阿部文浩，伊藤 潤，内山 丈，白井裕治，引地典雄，杉原 進：2006 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析，肥料研究報告，**1**，138~151 (2008)
4） 高橋雄一，加藤公栄，井塚進次郎，清水 昭，松﨑 学，井上智江，内山 丈，白井裕治，杉原 進：2007 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析，肥料研究報告，**1**，152~167 (2008)
5） 高橋雄一，加藤公栄，井塚進次郎，清水 昭，井上智江，内山 丈，白井裕治，上沢正志：2008 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析，肥料研究報告，**2**，97~115 (2009)
6） 八木寿治，白澤優子，相澤真理子，清水 昭，井上智江，八木啓二，白井裕治，上沢正志：2009 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析，肥料研究報告，**3**，73~94 (2010)
7） 八木寿治，白澤優子，相澤真理子，清水 昭，福中理絵，八木啓二，白井裕治，上沢正志：2010 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析，肥料研究報告，**4**，85~106 (2011)
8） 惠智正宏，渡部絵里菜，小西範英，阿部 進，福中理絵，八木啓二，白井裕治，上沢正志：2011 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析，肥料研究報告，**5**，68~89 (2012)
9） 舟津正人，渡部絵里菜，阿部 進，白井小枝，稲葉茂幸，八木啓二，白井裕治，上沢正志：2012 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析，肥料研究報告，**6**，61~83 (2013)
10） 独立行政法人農林水産消費安全技術センター（FAMIC）：肥料等試験法 <http://www.famic.go.jp/ffis/fert/ sub9.html>
11） Horwitz, W., Kamps, L.R., Boyer, K.W.: Quality control. Quality assurance in the analysis of foods for trace constituents, *J. AOAC Int.*, **63** (6), 1344~1354 (1980)
12） Thompson, M.: Recent Trends in Inter-laboratory Precision at ppb and sub-ppb Concentrations in Relation to Fitness for Purpose Criteria in Proficiency Testing, *Analyst*, **125**, 385~386 (2000)
13） Horwitz, W. Albert, R.: The Horwitz Ratio (HorRat): A Useful Index of Method Performance with Respect to Precision, *J. AOAC Int.*, **89** (4), 1095~1109 (2006)

14） 肥料取締法:昭和 25 年 5 月 1 日，法律第 127 号，最終改正平成 23 年 8 月 30 日，法律第 105 号(2011)
15） 矢野愛子，千田正樹，坂東悦子，鈴木知華，宮下靖司，稲葉茂幸，豊留夏紀，白井裕治，上沢正志：2013 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析，肥料研究報告，**7**，68~94 (2014)

Effect of Time during Extraction Operation on Measurements of Citric Acid-Soluble Magnesium in Silicate Slag Fertilizer

Souichi IGARASHI[1] and Yasuharu KIMURA[2]

[1] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center
(Now) Fukuoka Regional Center
[2] Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center

We had examined the reason that reproducibility of citric acid-soluble magnesium (C-MgO) using silicate slag fertilizer sample about proficiency testing of analytical laboratories was poor. That problem was suggested a difference in manufacturing process of silicate slag fertilizer sample. The manufacturing process could divide into air-cooling and water-cooling blast furnace slags. The dissolution rate of citric acid-soluble magnesium (C-MgO) using water-cooling slag was faster than air-cooling one. Moreover, citric acid-soluble magnesium (C-MgO) using air-cooling slag dissolved insidiously over set time of extraction written Testing Methods for Fertilizers. Thereby, in case of the analysis citric acid-soluble magnesium (C-MgO) using air-cooling slag, it is necessary immediate cool handling after extraction. We obtained a result of difference of the dissolution rate of citric acid-soluble magnesium (C-MgO) in extraction temperature. As a result , in order to analyze accurately citric acid-soluble magnesium (C-MgO) using air-cooling slags , it is important keeping strictly to set extraction temperature writtern Testing Methods for Fertilizers, and necessary immediate cool handling after extraction.

Key words silicate slag fertilizer, citric acid-soluble magnesium (C-MgO), Testing Methods for Fertilizers

(Research Report of Fertilizer, **7**, 145~156, 2014)